

Aus dem Laboratorium für Pharmakologie und Toxikologie
am Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**DIE WIRKUNG VON SECHS GEBRÄUCHLICHEN
ANTIEPILEPTICA AM ELEKTRISCH STIMULIERTEN
MEERSCHWEINCHENILEUM**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd Sannwaldt
Tierarzt aus Wendlingen/a. Neckar

Berlin 1982

1983



Aus dem Laboratorium für Pharmakologie und Toxikologie
am Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

DIE WIRKUNG VON SECHS GEBRÄUCHLICHEN ANTIEPILEPTICA
AM ELEKTRISCH STIMULIERTEN MEERSCHWEINCHENILEUM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd Sannwaldt
Tierarzt aus Wendlingen/a. Neckar

Berlin 1982

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher: Prof.Dr. F. Hörchner
Referent: Prof.Dr. H.-H. Frey
Korreferent: Prof.Dr. W. Wilk

Tag der Promotion: 18. Februar 1983

MEINEN ELTERN

12



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALT

	Seite
1. EINLEITUNG	7
2. LITERATURÜBERSICHT	10
2.1 Darm: Morphologie und Innervation	10
2.1.1 Glatte Muskulatur	10
2.1.2 Extrinsische Innervation	13
2.1.3 Intrinsische Innervation	16
2.1.4 Neurotransmitter des enteralen Nervensystems	22
2.2 Antiepileptika am zentralen Nervensystem	39
2.2.1 Phenytoin	40
2.2.2 Phenobarbital	46
2.2.3 Carbamazepin	50
2.2.4 Diazepam	53
2.2.5 Valproinsäure	56
2.2.6 Ethosuximid	59
2.3 Antiepileptika am isolierten Darm	61
2.3.1 Phenytoin	61
2.3.2 Phenobarbital und andere Barbiturate	63
2.2.3 Diazepam	65
3. MATERIAL UND METHODEN	
3.1 Versuchstiere und Präparation	68
3.2 Versuchsanordnung	69
3.3 Versuchsdurchführung	73
3.4 Versuchsauswertung	80
3.5 Verwendete Substanzen und Bezugsquellen	81
4. ERGEBNISSE	84
4.1 Die Eigenwirkung der Antiepileptika	84
4.1.1 Phenytoin	84
4.1.2 Phenobarbital-Na	90
4.4.3 Carbamazepin	94
4.4.4 Diazepam	98
4.4.5 Na-Valproat	102
4.4.6 Ethosuximid	106

	Seite
4.2 Die Eigenwirkung der Antagonisten	107
4.3 Die Beeinflussung der Wirkung der Anti- epileptica durch die Antagonisten	109
4.3.1 Phenytoin	109
4.3.2 Phenobarbital-Na	113
4.3.3 Carbamazepin	116
4.4.4 Diazepam	119
4.4.5 Na-Valproat	121
4.4 Die Wirkung von Glycofurol in den Versuchs- anordnungen 1 und 4	124
5. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	125
6. ZUSAMMENFASSUNG	139
7. SUMMARY	141
8. BEISPIELE	143
9. LITERATUR	150

1. EINLEITUNG

Es mag paradox klingen, die Wirkung von Antiepileptica, also von Stoffen, deren Hauptangriffspunkt das überaus komplexe Zentralnervensystem (ZNS) ist, an einem relativ simpel erscheinenden, peripheren Organ wie dem isolierten Meerschweinchenileum zu untersuchen, zumal das Interesse dieser Arbeit nicht den klinischen Nebenwirkungen der Antikonvulsiva am Gastrointestinaltrakt gilt, sondern Aspekten ihrer pharmakologischen Wirkungsmechanismen.

Es häufen sich neuere Literaturstellen (Gabella, 1981; Gershon, 1981), die auf erstaunliche Parallelen zwischen dem ZNS und dem intramuralen Nervengeflecht des Darmes hinweisen. Taxi (1959) erwähnte als erster, daß elektronenmikroskopische Bilder von Ganglien in der Darmwand mehr zentralen als peripheren autonomen Ganglien gleichen. Strukturelle Gemeinsamkeiten waren in der Kompaktheit der Zellen, der Abtrennung der Nervenzelle von den Blutgefäßen (vgl. Blut-Hirnschranke), den konnektiven Geweben, der Abwesenheit eines Extrazellulärspaltes und dem Vorhandensein eines dichten Neuropils zu finden. Aber es gab nicht nur Übereinstimmungen in der Ultrastruktur, sondern auch in funktionellen Bereichen. Als besonders markantes Beispiel steht hierfür die Vielfalt von Rezeptoren und Überträgerstoffen im Darmnervensystem. Lange Zeit begnügte man sich mit der Annahme, daß Acetylcholin (Ach) und Noradrenalin (NA) die einzigen Überträgerstoffe des peripheren Nervensystems (PNS) einschließlich des enteralen Nervengeflechts wären. Gershon (1981) weist heute auf eine ganze Reihe zusätzlicher Substanzen, vor allem in der Darmwand, hin, mit nachgewiesener oder zumindest vermuteter Transmitterfunktion. Neben Ach und NA zählen dazu 5-Hydroxytryptamin (5-HT = Serotonin), Enkephalin, Substanz P, vasoaktive intestinale Polypeptide (VIP), Adenosintriphosphat (ATP) oder andere Adenosinverbindungen, γ -Aminobuttersäure (GABA) und Prostaglandine.



Einige dieser Stoffe sind ebenfalls als Transmitter zentraler Neuronen bekannt.

Gegenüber einer vorwiegend auf den Zellstoffwechsel gerichteten Betrachtungsweise der Funktion des ZNS und dessen Störung im Rahmen der Epilepsie rückten in den letzten Jahrzehnten Fragen der synaptischen Erregungsübertragung im ZNS und der dabei beteiligten Transmittersubstanzen mehr in den Vordergrund (Herz, 1970). Dabei wurde auch eine Palette von Erkenntnissen über Interaktionen von Antiepileptica und Überträgerstoffen gewonnen. Trotzdem bleiben auf diesem Gebiet zahlreiche Fragen offen. Hier eröffnet sich für den Darm mit seiner Transmitter- und Rezeptorenvielfalt eine Chance als Versuchsmodell synaptischer Erregungsübertragung in der Hoffnung, daß hieran neu gewonnene Erkenntnisse zur Deutung zentraler Phänomene nützlich sein könnten. Die Vorteile eines isolierten Darmpräparates gegenüber einem Gehirnpräparat sind offensichtlich. Die Darmstückchen sind vergleichsweise wenig empfindlich und anspruchslos im Versuch. Sie erbringen über Stunden verwertbare Ergebnisse *in vitro*. Obgleich das enterale Nervensystem (ENS) komplexer als autonome Ganglien konstruiert ist, wirkt es verglichen mit dem ZNS weit simpler, was die Interpretation von Ergebnissen erleichtern könnte. Seine Brauchbarkeit auf diesem Gebiet hat das isolierte Ileum schon in der Opiatforschung bewiesen.

Diese Arbeit soll nun ein weiterer Schritt auf dem Wege sein, die Möglichkeiten des Darmpräparates auszunutzen. Sie hatte als Aufgabe zu untersuchen, ob bzw. inwieweit das intramurale Nervensystem des Darmes in Abhängigkeit zur glatten Muskulatur durch Antiepileptica beeinflußt werden kann. Bei den Antiepileptica (AE) handelte es sich um Phenytoin, Phenobarbital, Carbamazepin, Valproinsäure, Ethosuximid und Diazepam. Ihre Dosierungen richteten sich nach den jeweiligen therapeutischen Plasmakonzentrationen.

Als Maß der Wirkung der Antiepileptica diente ihr Einfluß auf elektrisch induzierte Kontraktionen des Meerschweinchenileums. Die elektrische Reizung wurde aus dem Grund als Stimulationsart gewählt, da wegen der langen Chronaxie der glatten Muskulatur selektiv neuronale Elemente des Darmes mit entsprechenden Elektroimpulsen aktiviert werden können ohne direkte Stimulation der Muskulatur (Paton, 1975; Gershon, 1981). Reizintensität und -frequenz wurden dabei variiert, was verschiedene Nervenqualitäten und letztendlich die Muskulatur direkt erregen sollte, um zu beobachten, ob dadurch die Wirkung der Antikonvulsiva verändert wird. Weiterhin versuchten wir durch einen Einsatz bekannter Antagonisten den pharmakologischen Angriffspunkt der Antiepileptica näher zu lokalisieren.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1 Darm: Morphologie und Innervation

Als eines der gebräuchlichsten Präparate in der Pharmakologie wird das isolierte Darmsegment verschiedener Labortiere (Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen) verwendet. Da die Unversehrtheit der Nervengeflechte innerhalb der Darmwand unter gewöhnlichen Versuchsbedingungen gesichert ist, müssen solche Darmstücke als Nerv-Muskelpräparat angesehen werden (Holman, 1975). Im folgenden wird zum besseren Verständnis der Arbeit eine kurze Einführung in die Morphologie und Innervation der intestinalen Muskulatur unter besonderer Berücksichtigung der Überträgerstoffe des enteralen Nervensystems gegeben.

2.1.1 Glatte Muskulatur

Der Darm der meisten Säuger besteht aus einem langen, in Falten und Windungen gelegten Muskelrohr. Er ist ein glattmuskuläres Hohlorgan, dessen Wand histologisch in drei Schichten unterteilt werden kann:

1. die Schleimhaut = Tunica mucosa
2. die Muskelhaut = Tunica muscularis
3. der Bauchfellüberzug = Tunica serosa.

Die Schleimhaut und der Bauchfellüberzug werden in den weiteren Ausführungen außer Betracht gelassen.

Die Muskelhaut setzt sich zusammen aus zwei durch ein Nervengeflecht voneinander getrennten Schichten, der äußeren longitudinalen und der inneren, dickeren circulären. Die strukturelle und funktionelle Grundeinheit dieser Lagen bilden um 100 µm dicke Muskelfaserbündel, die von kollagenen und elastischen Fasern umgeben und zusammengehalten werden. Mehrere Dutzend länglicher und an den Enden spitz zulaufender Muskelzellen sind in einem solchen Bündel zu-

sammengefaßt. Sie liegen gestreckt und beinahe parallel zueinander. Aufzweigungen einzelner Muskelzellen sind sehr selten zu sehen. Ihr Querschnitt ist rund bis oval, häufig aber durch Anpassung an umgebende Zellen polygonal. Das Aussehen der Zelloberfläche ist abhängig vom Kontraktionszustand. Bei isotonischer Verkürzung der Zellen erscheint sie stark gewellt, bei Fixation in mäßiger Streckung weist sie eine glatte Oberfläche auf. Die Zelllänge variiert beträchtlich von einigen μm bis zu einem mm . Sie ist ein ziemlich unsicherer Parameter, da diese Zellen sich enorm zusammenziehen können.

Die Muskelfaserbündel sind vielgestaltig, z.B. in der Längsmuskulatur sind sie abgeflacht. Sie verzweigen sich und anastomisieren untereinander. Ihre präzisen Ausrichtungen innerhalb der Längs- und Ringmuskulatur bedürfen noch weiterer Klärung. Nach Farrar und Zfass (1967) kann die longitudinale Schicht mit einer lang ausgezogenen Spirale verglichen werden, während die circuläre Lage dagegen einer zusammengepreßten Spiralfeder nahekommt. Abweichungen der Faserbündel von der longitudinalen bzw. circulären Ausrichtung sind eher zufällig, sollen möglicherweise aber eine physiologische Rolle in der Erregungsausbreitung bei der circulären Muskulatur spielen. Für den Dünndarm unserer Laboratoriumstiere gibt es auf diesem Gebiet jedoch noch keinerlei Erkenntnisse. Muskelfasern der Längsmuskulatur durchkreuzen den zwischen beiden Lagen gelegenen Nervenplexus und vermengen sich mit circulären Fasern. Angeregt durch Berichte darüber fand Gabella (1972) verschiedene enge Kontaktstellen zwischen beiden Muskelschichten beim Meerschweinchenileum, ohne aber eine Aussage machen zu können, ob eine der von ihm beschriebenen Strukturen mitbeteiligt ist an der passiven Ausbreitung von Membranpotentialveränderungen und damit an der interzellulären Kommunikation (elektrische Kopplung) (Burnstock, 1970; Holman, 1975; Gabella, 1981).

Gastrointestinale Muskulatur ist nicht nur passiv elek-

trisch erregbar, sie zeigt selbst spontane elektrische Aktivität in Form von Aktionspotentialen und rhythmischen Membranpotentialschwankungen, sog. slow waves (Tomita, 1981). Der Meerschweinchendünndarm bildet hier eine Ausnahme. Die periodischen Potentialschwankungen entstehen nicht spontan, können aber durch Acetylcholin, das über muscarinerge Rezeptoren an glatten Muskelzellen wirkt, initiiert werden (Daniel, 1982). Die Frequenz der Aktionspotentiale und damit zusammenhängend der mechanische Tonus wird bestimmt durch die Höhe des Membranpotentials. Dieser Zusammenhang wird noch als allgemein gültig für die intestinale Muskulatur akzeptiert, bei der Gefäßmuskulatur aber in Frage gestellt (Casteels, 1981). Das Ruhemembranpotential der Längsmuskulatur beim Meerschweinchendarm beträgt nach Kuriyama et al. (1967) 54-56 mV, für die Ringmuskulatur 57-60 mV. Burnstock (1970) ermittelte in Versuchen, daß von kleineren, unter 100 µm im Durchmesser dicken Einheiten keine fortgeleiteten Aktionspotentiale abgeleitet werden konnten. Stimulation einzelner Dickdarm- oder Samenletermuskelzellen des Meerschweinchens mit einer intrazellulären Elektrode initiierte keine Aktionspotentiale und daraus folgend keine Kontraktionen. Er folgerte daraus, daß nicht individuelle Zellen, sondern Muskelfaserbündel im Intestinum das Erfolgsorgan bzw. das Effektororgan darstellen.

Die Erregungsausbreitung innerhalb der glatten Muskulatur ist nur denkbar im Zusammenhang mit dem Vorhandensein spezifisch gestalteter Kontaktpunkte zwischen Muskelzellen. In elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten solche interzellulären Brücken näher charakterisiert werden. Bei den 'gap junctions' oder Nexus kommt es zu einer engen Annäherung der Plasmalemmen, so daß nur noch ein interzellulärer Spalt von 2-3 nm besteht. Die 'intermediate junctions' oder, weniger korrekt, Desmosomen-ähnlichen Verbindungsstellen weisen dagegen eine Lücke von 20 nm und mehr auf (nähere Beschreibung der Zell-zu-Zell-Verbindun-

gen siehe Henderson, 1975, und Gabella, 1981). Die Verteilung der Nexus in den beiden Muskelschichten ist unterschiedlich. Während die Ringmuskulatur reichlich solche Kontaktstellen aufweist, konnten in der Längsmuskelschicht der Nager keine nachgewiesen werden. Für Gabella wirft die uneinheitliche Verteilung dieser engen Verbindungsstellen ungelöste Probleme auf, da nach seiner Meinung noch keine anderen Strukturen entdeckt wurden, die zur elektrischen, intermuskulären Kopplung in der longitudinalen Lage beitragen könnten. Das Fehlen von 'gap junctions' in Muskeln mit so guten Kabeleigenschaften kann nach Gabellas Ansicht nur dann generell akzeptiert werden, wenn andere morphologische Verbindungen gefunden werden, die der elektrischen Kopplung dienen können. Die 'intermediate junctions' haben für ihn rein mechanische Bedeutung, während Henderson ihnen auch erregungsübertragende Funktionen beimißt.

2.1.2 Extrinsische Innervation

Unter der extrinsischen Nervenversorgung werden die mit höheren Zentren kommunizierenden afferenten wie efferenten Fasern zusammengefaßt. Über die afferenten Neuronen ist sehr wenig bekannt. Die sensorischen Fasern vom Dünndarm erreichen das ZNS über den Nervus vagus und über den Brustteil des Grenzstranges (Truncus sympathicus). Die Übermittlung von Schmerzempfindungen ist wahrscheinlich auf die thorakalen Fasern beschränkt, während die afferenten Nerven des Vagus eine wichtige Rolle beim enterogastrischen inhibitorischen Reflex einnehmen sollen (Youmans, 1949 und 1968, zit. nach Holman, 1975).

Die efferenten motorischen Fasern dagegen sind eingehender untersucht worden. Sie werden anatomisch in drei Gruppen unterteilt (Gabella, 1979): 1) den Nervus vagus, 2) die Nervi splanchnici mit dem abdominalen Plexus und

dessen zum Magen und Darm ziehenden perivaskulären Nerven; und 3) dem Plexus pelvis und seinen Nerven. Je nach der überwiegenden Nervenqualität der postganglionären Fasern (cholinerg oder noradrenerg) werden diese nervösen Strukturen dem parasympathischen bzw. sympathischen Anteil des vegetativen Nervensystems zugeordnet.

Zu den Gruppen 1) und 3): Die vagalen und sakralen Nerven enthalten vorwiegend parasympathische, lange präganglionär cholinerge Axone, die craniosakralen Zentren entspringen (u.a. Medulla oblongata, Ganglion nodosum, sakralem Rückenmark). Der Vagus tritt durch dieselbe Öffnung wie der Ösophagus in den Bauchraum. Die Mehrzahl seiner abdominalen Fasern penetrieren die Magenwand und enden in diesem Organ; nur wenige vagale Fasern ziehen zu anderen Darmabschnitten entweder entlang der Magenwand oder über das Ganglion coeliacum. Der abdominale Vagus enthält auch eine kleine Zahl noradrenerger Fasern, die im Ganglion cervicale cranialis entspringen und mit dem Vagus anastomosieren. Die parasympathischen sakralen Nerven ziehen zum Beckenplexus und von dort zum Mastdarm entlang grossen Blutgefäßen. Im Plexus pelvinus vermischen sich mit den präganglionären sakralen Nerven postganglionäre adrenergene Fasern und wahrscheinlich noch andere Fasertypen einschließlich afferenter Axone (Gabella, 1979; Daniel, 1968).

Stimulation des dezentralisierten Vagus mit niedrigfrequenten Impulsen führt zu verstärkter motorischer Aktivität des Darms ähnlich wie nach Acetylcholin-Injektionen. Hochfrequente Reizung ($\geq 10/\text{sec}$) kann jedoch zu Motilitätshemmung und Tonusabnahme führen, besonders wenn muscarinerge Rezeptoren durch Atropin ausgeschaltet werden.

Die Stimulation perivaskulärer, mesenterialer Nerven, die zum Dünn- oder Dickdarm führen und präganglionär cholinerge (vagale oder sakrale) Fasern neben postganglionär noradrenergen Fasern enthalten, wirkt meist hemmend. Eine

Anregung der motorischen Darmtätigkeit durch die Aktivierung der mesenterialen Nerven kann auftreten, wenn zuvor der hemmende sympathische Anteil durch Reserpin, Bretylium oder Guanethidin ausgeschaltet wird. Die Steigerung der Darmmotilität ist dann auf einen vermehrten cholinergen Einfluß zurückzuführen und kann durch Atropin, Hyoscin und Hexamethonium (Blocker ganglionärer Transmission) unterdrückt werden. Eine Verstärkung des excitatorischen Effektes nach der Stimulation der mesenterialen Nerven ergibt sich durch Eserin, einen Cholinesterasehemmer (Daniel, 1968).

Zu Gruppe 2): Die sympathischen Fasern für den Magen und Darm entspringen Neuronen in den prävertebralen Ganglien (Ganglion coeliacum, Ganglion mesentericum cranialis und caudalis), die zusammen den Plexus abdominales bilden. Sie ziehen perivaskulär im Mesenterium zum Gastrointestinaltrakt. Die postganglionär noradrenergen Fasern sind in allen Darmabschnitten der meisten Säuger zu finden. Wie im vorigen Absatz schon erwähnt, enthalten sie auch einige parasympathischen Anteile. Neben diesen führen die sympathischen Nerven auch afferente Fasern, so daß die prävertebralen Ganglien nebeneinander mit Neuronen vom Rückenmark und mit Neuronen im Verdauungstrakt in Kontakt stehen (Gabella, 1979).

Spinalreflexe, ausgelöst durch Darmwanddehnungen, peritoneale Stimulation und Reizung visceraler Organe, aktivieren die sympathischen Nerven und führen zu einer Abnahme der Darmmotilität. Eine Steigerung dieser inhibitorischen Reflexe durch Stimulation sympathischer Nerven im physiologischen Bereich ($\leq 8/\text{sec}$) gelingt nicht. Erst frequentere Reize ($\geq 10/\text{sec}$) führen zu einer sympathischen Hemmung (Kosterlitz und Lees, 1964; Daniel, 1968).

2.1.3 Intrinsische Innervation

1921 regte Langley in seiner klassischen Beschreibung des autonomen Nervensystems an, die Darmnervengeflechte als dritte eigenständige Untereinheit neben Sympathicus und Parasympathicus im peripheren Nervensystem zu akzeptieren. Weniger als 20.000 vagalen Fasern, darunter nur ca. 3.000 efferenten (Gabella, 1979), standen rund 6.000.000 Ganglienzellen in den Darmplexus des Meerschweinchens gegenüber. Langley schloß daraus, daß allein schon aus anatomischer Sicht viele Neuronen im Darm keinen direkten Anschluß an das ZNS haben konnten. Physiologische Studien bestärkten die Unabhängigkeit und Autonomie des enteralen Nervensystems. 1917 demonstrierte Trendelenburg in vitro Reflexaktivitäten des Darmes, der zuvor vollständig von der extrinsischen Innervierung abgeschnitten war. Dieser sogenannte peristaltische Reflex besteht aus nervös regulierten, koordinierten Kontraktionswellen und Relaxationen der intestinalen Muskulatur, die von oral nach anal verlaufen, als Antwort auf erhöhten intraluminalen Druck oder chemische Reizung der Schleimhaut (Kosterlitz und Lees, 1964). Dieses sinnvoll abgestimmte Ineinandergreifen von mechanischer Anspannung und Erschlaffung überlagert ein der glatten Muskulatur eigenes, spontanes elektrisches Aktivitätsmuster (Bortoff, 1976). Voraussetzung für solche auch in vitro ablaufenden Automatismen müssen darmeigene sensorische Druck- und Chemorezeptoren, eigene sensorische Neuronen, integrierende Nervenzellen und erregende wie hemmende Motoneuronen sein. Neue morphologische und physiologische Erkenntnisse untermauern die Eigenständigkeit des Darmnervensystems, so wie Langley es postulierte. Deshalb greifen heute verschiedene Autoren (Gabella, 1981; Gershon, 1981) Langleys Forderung nach einer gesonderten Klassifizierung des Darmnervensystems innerhalb des autonomen Nervensystems auf und unterstützen sie.

Das intrinsische Nervensystem umfaßt die große Menge der in die verschiedenen Schichten der Darmwand eingebauten vegetativen Nervenfasern und Ganglienzellen (Plexus entericus). Seine auffälligsten Bestandteile sind zwei Plexus, nämlich der Plexus myentericus (= Auerbachscher Plexus) und der Plexus submucosus (= Meißnerscher Plexus), die kontinuierlich vom Magen zum Enddarm ziehen. Sie liegen parallel zur serösen Oberfläche. Der Auerbachsche Plexus ist eingebettet zwischen der Längs- und Ringmuskelschicht; der Meißnersche Plexus befindet sich in der Submucosa.

Burnstock (1970) beschrieb als Beispiel für den komplexen Aufbau der intramuralen Nervenplexus die lichtmikroskopische Struktur des Plexus myentericus: "Dieser Hauptplexus umfaßt wiederum drei Nervenplexus; den primären, sekundären und tertiären Plexus, die sich durch Größe und Lage ihrer Nervenbündel unterscheiden. Der primäre Plexus besteht aus großen Nervenfaserbündeln und Ganglienzellen, die ein weites Maschenwerk bilden. Ganglien formen die Knotenpunkte dieses Netzes, die durch Faserstränge miteinander verbunden werden. Die Form und Gestalt der Nervenordnung ist recht typisch für die einzelnen Spezies wie für die unterschiedlichen Darmabschnitte. So kann aufgrund der Netzform der Kaninchen - vom Affen- oder Rattendarm ebenso unterschieden werden wie das Meerschweinchenileum vom Meerschweinchenoduodenum, -jejunum oder -colon (Gabella, 1979).

Extrinsische Nerven durchdringen die longitudinale Muskelschicht vom Mesenterium her und haben engen Kontakt zum primären Plexus. Die Zwischenräume des Netzes werden durch dünnere, sekundäre Nervenbündel und durch ein dichtes Geflecht feiner Nerven ($3-10\text{ }\mu\text{m }\phi$) des tertiären Plexus ausgefüllt. Ein interstitielles Zellgefüge (Cajal, 1893) durchzieht das tertiäre Nervenplexus. Es weist mitunter enge Beziehungen zur glatten Muskulatur auf. Deshalb wurde spekuliert, ob diese Zellen eine vermittelnde Aufgabe

zwischen Nerven- und glatten Muskelzellen wahrnehmen. Dies blieb unbestätigt. Es sind weder Abkömmlinge irgendwelcher Nerven- noch Schwannscher Zellen. Ihre Funktion ist weiterhin unbekannt.

Vom tertiären Plexus aus ziehen Nervenfasern zur und in die Darmmuskulatur. Sie verlaufen parallel zur Hauptachse der Muskelfasern, teilen sich auf in kleinere Äste und endigen in begrenzten Arealen frei vom Schwannzellenüberzug als Einzelfasern. Das tertiäre Geflecht und seine zur Muskulatur führenden Nerven sind mit dem autonomen Grundgeflecht ('autonomic ground plexus') gleichzusetzen, wie es 1959 durch Hillarp definiert wurde. An dieser Stelle muß besonders auf die Innervation der Längsmuskulatur kleiner Nager aufmerksam gemacht werden. Sie stellt eine Ausnahme dar. Bei diesen Spezies (u.a. Meerschweinchen, Ratte) bleiben die Nervenfasern oberflächlich und parallel am longitudinalen Muskelmantel gelegen. Sie dringen nicht in tiefere Muskellagen ein. Daraus wird abgeleitet, daß bei den Tieren die intermuskuläre Erregungsausbreitung eine hervorragende Rolle einnimmt.

Über feine Nervenbündel, die meist mit den Blutgefäßen verlaufen, steht der Auerbachsche Plexus mit dem Meißnerschen Plexus und der Schleimhaut in Kontakt."

Elektronenmikroskopische Untersuchungen erbrachten weitere Erkenntnisse. So scheinen die Ganglien von einer zusammenhängenden Basalmembran überzogen zu sein, die kollagene Fasern, Blutgefäße und Fibroblasten ausschließt (Gabella, 1979, 1981).

Auch die feinen Nervenstränge, vor allem sympathische, sind eingehender untersucht worden. Dabei handelt es sich um mehrere unabhängige Axone, die in demselben Schwannzellenmantel gebündelt sind. Sobald sie in die Muskelfaserbündel eintreten oder am Muskelmantel oberflächlich angrenzen, nehmen die Axone ein perlschnurartiges Aussehen an. In den Ausbuchtungen, sogenannten Varikositäten, akkumulieren synaptische Vesikel verschiedenen Typs. Die

Axonenauftreibungen sind häufig frei vom Schwannzellen-überzug und befinden sich im präterminalen oder auch terminalen Bereich der Nerven. Hier sollen die Überträgerstoffe freigesetzt werden (s. Abb. 1) (Burnstock, 1970; Gabella, 1979).

Da nicht immer postsynaptische Membrandifferenzierungen im Bereich der Varikositäten zu erkennen sind, wird allgemein angenommen, daß der Vorgang der Diffusion einen breiten Raum in der Erregungsübertragung einnimmt. Dazu gehört auch, daß Transmitter vor allem im präterminalen Bereich sozusagen 'en passage' freigesetzt werden. Die Transmitterfreisetzung zielt nicht ausschließlich in Richtung Muskulatur, sie ist auch auf andere Nerven hin ausgerichtet. Es bestehen enge Verbindungen zwischen den einzelnen Neuriten. Jessen (1980) sieht die Bedeutung dieser Anordnung darin, daß so die neuromuskuläre Transmission durch präsynaptische Modulation axo-axonaler Art beeinflußt werden kann.

Enge Kontakte (< 100 nm) zwischen Nervenendigung und Membranen glatter Muskelzellen sind selten. Erst nach einer Diffusionsstrecke von 1.000 nm und mehr erreicht ein Großteil der Transmitter z.B. die Längsmuskelschicht (Daniel, 1968; Burnstock, 1970; Gabella, 1979). Elektronenphysiologisch festgestellte lange Latenzzeiten beim Entstehen eines postsynaptischen Potentials können nicht durch Diffusion erklärt werden. Die Diffusion über 1.000 nm würde nur wenige Millisekunden in Anspruch nehmen; die Verzögerung bei transmuraler Reizung der intramuralen Nerven zwischen Stimulus und Potential beträgt nach Kosterlitz und Lydon (1971) jedoch 210 msec. Daniel (1968) führt kritisch dazu aus, daß das Dasein vieler Varikositäten mit synaptischen Vesikeln, die Präsenz axo-axonaler Kontakte, das Auftreten von Zell-zu-Zell- und Muskelschicht-zu-Muskelschicht-Übertragung elektrischer Aktivität und die periodischen, spontanen elektrischen Entladungen intestinaler Muskeln unabhängig von nervösen Einflüssen

eine einfache, direkte Beziehung Nervenimpuls-Muskelantwort nicht erwarten läßt.

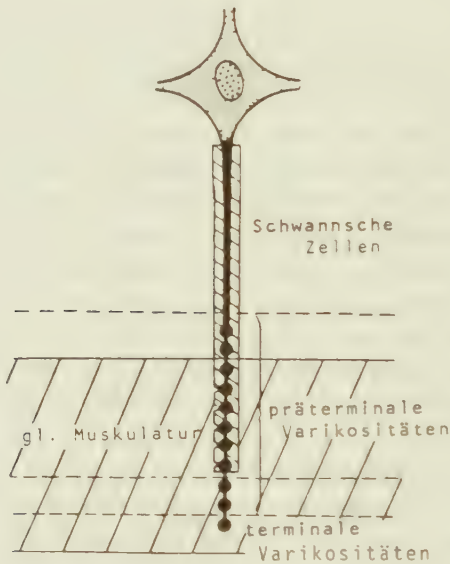


Abb. 1: Diagramm eines sympathischen Neurons

Zur Abrundung des bisherigen soll ein Modell sympathischer neuromuskulärer Transmission nach Burnstock (1975) vorgestellt werden, das einiges des zuvor Gesagten nochmals miterfaßt (s. auch Abb. 2):

"Der sympathische Überträgerstoff Noradrenalin wird vor allem im präterminalen Bereich der Nerven 'en passage' freigesetzt.

Erfolgsorgan ist eher ein Muskelbündel als eine einzelne Zelle. Individuelle Zellen im Effektormuskel sind durch Nexus verbunden. Das sind Orte mit geringem elektrischen Widerstand, die die intermuskuläre Erregungsausbreitung ermöglichen.

In den meisten Organen sind einige, aber bei weitem nicht alle Muskelzellen innerviert. Die neben den direkt innervierten gelegenen Zellen sind an diese elektrisch gekoppelt, so daß erregende Generatorpotentiale von ihnen abgeleitet werden können. Diese Zellen werden 'gekoppelte Zellen' (coupled cells) genannt.

Werden Muskelzellen in der Umgebung eines Effektorbündels durch dieses depolarisiert, entsteht nach dem Alles-oder-Nichts-Gesetz ein Aktionspotential, das sich im Gewebe fortpflanzt. Diese weder direkt noch indirekt innervierten Muskelzellen werden als 'indirekt gekoppelte Zellen' (indirect coupled cells) bezeichnet, d.h. sie kontrahieren sich indirekt auf Nervenstimulierung.

Es ist unwahrscheinlich, daß die drei aufgeführten Zelltypen verschieden in Struktur und Eigenschaften sind. Im Gegenteil, es scheint, daß eine Muskelzelle sowohl die



Abb. 2: Schema der autonomen sympathischen Innervation glatter Muskulatur nach Burnstock (1975). Erläuterungen im Text.

Rolle einer direkt innervierten als auch einer direkt gekoppelten oder einer indirekt gekoppelten Zelle zu verschiedenen Zeiten während des normalen physiologischen Ablaufs der nervösen Organkontrolle einnehmen kann."

2.1.4 Neurotransmitter des enteralen Nervensystems

Acetylcholin (Ach)

Ach ist der Überträgerstoff postganglionärer Motoneuronen, die die gastrointestinale Muskulatur erregen bzw. zur Kontraktion bringen. Ach fungiert auch als Transmitter präganglionärer Nerven. Einerseits sind es möglicherweise Nervenfortsätze, die den Darm als Teil der vagalen und sakralen (extrinsischen) Nervenversorgung erreichen; andererseits sollen sie Ausläufer intrinsischer cholinergischer Interneuronen darstellen (Holman, 1975; Gershon, 1981).

Ach scheint die Kontraktion durch einen direkten Angriff an der intestinalen Muskulatur zu initiieren. Die excitatorische Wirkung von Ach wird über muscarinerge Rezeptoren vermittelt. Sie kann spezifisch durch Atropin oder Scopolamin gehemmt werden.

Die prä- zu postganglionären Synapsen sind nicotinempfindlich und werden reversibel geblockt durch Hexamethonium und andere Ganglienblocker (Daniel, 1968).

Jüngere Arbeiten weisen darauf hin, daß muscarinerge Rezeptoren nicht nur an der glatten Muskulatur zu finden sind, sondern auch präsynaptisch an Nervenfasern (Ochillo et al., 1981). Der Stimulation dieser Rezeptorenpopulation soll eine hemmende Funktion zukommen in Form einer negativen Rückkopplung (neg. feedback), während die Erregung postsynaptischer Rezeptoren excitatorisch wirkt (Bass et al., 1979).

Die Circulärmuskulatur des Meerschweinchenileums ist, wenn sie von der longitudinalen Muskelschicht und dem Auerbachschen Plexus separiert wird, relativ oder komplett unemp-

findlich gegenüber Ach (Harry, 1963). Eine eindeutige Erklärung gibt es für dieses Phänomen nicht.

Paton und Zar (1968) wiesen nach, daß der Hauptteil des im Darm vorhandenen Achs aus nervösen Strukturen stammt. Sie verglichen die Ach-Konzentrationen im Medium in Ruhe und nach elektrischer Stimulation innervierter und denervierter, isolierter Darmstücke. Während im Medium innervierter Präparate merkliche Ach-Mengen nachweisbar waren, wurde in der Badflüssigkeit denervierter Stücke so gut wie kein Ach gefunden. Ein Teil des Ruheausstoßes scheint dabei das Resultat spontaner neuronaler Aktivität zu sein, da der Ausstoß signifikant durch Hexamethonium gesenkt werden konnte. Ein gewisses Quantum an Ach wird trotz Ganglienblockade und trotz Nervenparalyse durch Tetrodotoxin (unterbindet die Weiterleitung von Aktionspotentialen an Nerven (Kao, 1966)) freigesetzt, d.h. es wird auch unabhängig von jeglicher Nervenaktivität Ach von postganglionären cholinergen Nervenendigungen entleert (Gershon, 1967).

Die Tatsache, daß Hexamethonium die Ach-Freisetzung in Präparaten, die von extrinsischen Nerven abgetrennt worden sind, nachweisbar senkt, ist für Gershon (1981) ein weiteres Indiz für cholinerge Interneurone. Er vermutet, daß die Interneuronen nicotinempfindliche Synapsen mit den primär in der Transmitterfreisetzung verwickelten Neuronen bilden.

Arbeiten von Paton (1963) und Cowie et al. (1978) lassen darauf schließen, daß Ach aus zwei verschiedenen Transmitterpools freigesetzt wird. Die Stimulation isolierter Darmpräparate mit niedrigfrequenten elektrischen Impulsen ($\leq 1/\text{sec}$) resultiert in einem höheren Ach-Ausstoß/Impuls als bei höheren Reizfrequenzen. Der niederfrequente Bereich ist morphinempfindlich, der hochfrequente dagegen nicht.

Für diese funktionellen Hinweise fehlen noch die entsprechenden strukturellen Belege. Es ist überaus schwierig,

definitiv cholinerge Nervenendigungen in elektronenmikroskopischen Bildern von anderen Nerven zu unterscheiden. Neue Hoffnungen werden mit dem Gift vom Naja naja siamensis verknüpft. Das Toxin soll spezifisch cholinerge Nervenendigungen degenerieren lassen (Gershon, 1981).

Noradrenalin (NA)

Seit Finklemans Untersuchungen 1930 ist bekannt, daß eine adrenerge Substanz, die die Darmmotilität hemmt, bei der Stimulierung sympathischer Nerven freigesetzt wird. Erst 20 Jahre später wird der Stoff als NA identifiziert (von Euler, 1951).

Die adrenergen Axone in der Darmwand sind zumeist post-ganglionäre Ausläufer extrinsischer Neuronen, deren Zellkörper in den prävertebralen Ganglien liegen. Es gibt einige wenige Ausnahmen; so konnten Costa et al. (1971) adrenerge Nervenzellen im proximalen Colon des Meerschweinchens nachweisen.

Trotz zahlreicher morphologischer Studien adrenerger Prozesse herrscht noch Unsicherheit bei der exakten Bestimmung der Wirkungsorte von NA. Klassischerweise ist unterstellt worden, daß die sympathischen Nerven, nachdem sie perivaskulär im Gekröse zum Darm ziehen, an den glatten Muskelzellen endigen und diese durch Hyperpolarisation der Muskelmembranen relaxieren. Heute gilt, daß adrenerge Axone terminal in den enteralen Nervenplexus ein Grundgeflecht bilden und nur wenige Fasern direkt die Muskulatur innervieren.

Eine derartige Anordnung der sympathischen Nerven ließ die Idee entstehen, daß die adrenerge Innervation nicht einfach nur direkt die Muskulatur als Erfolgsorgan beeinflusst, sondern ebenso die ganglionäre Erregungsübertragung oder die Ach-Freisetzung an cholinergen Nervenendigungen. Denkbar ist auch, daß auf dem sympathischen Nervenweg zum Effektororgan Muskel ein cholinerges Neuron zwischengeschaltet wird. Relaxation durch sympathische Stimulierung könnte

dann bewirkt werden durch Modulation des excitatorischen cholinergen Tonus (s. auch Abb. 3).

Kritisch anzumerken ist an dieser Stelle, daß die Abwesenheit adrenerger Fasern vor allem in der Längsmuskelschicht nicht notwendigerweise eine sympathische Innervierung ausschließt. Die intestinalen glatten Muskelzellen sind direkt oder indirekt untereinander elektrisch gekoppelt. Eine Hyperpolarisation und damit herabgesetzte Erregbarkeit an der Grenzschicht Muskel-Nervenplexus gelegener Muskelzellen würde theoretisch ausreichen, um größere muskuläre Areale in ihrer Aktivität zu dämpfen. Es soll nochmals darauf verwiesen werden, daß die longitudinalen Muskulatur kleiner Nager nicht von Axonen irgendwelcher Art durchzogen wird. Das heißt, daß bei diesen Spezies nicht nur die adrenerge, sondern auch die cholinerge und nicht-adrenerge inhibitorische Nervenkontrolle an der Schwelle Plexus-Muskelschichtoberfläche ablaufen muß (Gershon, 1981).

Pharmakologische Ergebnisse unterstützen die Hypothesen, daß NA mehrere Angriffspunkte am Darm hat. Die folgenden Ausführungen beschränken sich vor allem auf den Meerschweinchendünndarm, da die Versuchsergebnisse durchaus von der Spezies und dem Darmsegment abhängig sind.

NA hat eine inhibitorische und excitatorische Wirkung auf die mechanische Aktivität des Meerschweinchenileums, nicht nur durch direkte Einwirkung auf die glatte Muskulatur, sondern auch durch indirekte Aktionen auf nervöse Elemente (Bülbring et al., 1981).

So senkt NA die Ach-Abgabe vom myenterischen Plexus durch Einwirkung auf α -Rezeptoren (Schaumann, 1958; Paton und Vizi, 1969) zusätzlich zur direkten, relaxierenden Wirkung auf die glatte Muskulatur über α - und β -Rezeptoren (Schofield, 1968). Ein Angriffsort von NA scheint auch distal von ganglionären Synapsen zu liegen, da nach elektrischer Stimulierung postganglionärer cholinergischer Nerven NA die Ach-Abgabe ins Bademedium verminderte (Paton und Vizi, 1969).

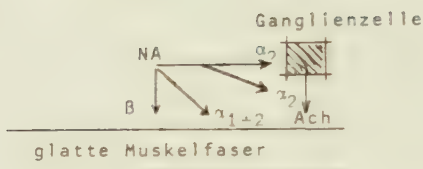


Abb. 3: Mögliche Verteilung der α - und β -adrenergen Rezeptoren nach Brody und Diamand (1967)

Kontraktionen des Meerschweinchenileums, die durch transmurale Stimulation der Nerven induziert wurden, konnten vollständig mit α -Stimulantien, aber nur teilweise (20-50%) durch β -Sympathomimetika wie z.B. Isoprenalin unterdrückt werden (Kosterlitz und Watt, 1965). α - und β -Blocker mußten gleichzeitig appliziert werden, um die inhibitorische Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin am transmural gereizten Ileum aufzuheben. Obwohl relativ schwach wirksam gegenüber nerval induzierten Kontraktionen, waren β -Sympathomimetika ebenso effektiv wie α -Stimulantien im Unterdrücken direkt hervorgerufener Kontraktionen (z.B. durch Zugabe von ACh oder Histamin). Nur β -Blocker und keine α -Blocker waren wirksam gegenüber adrenerger Inhibition bei direkter Muskelstimulierung (Kosterlitz und Watt, 1965). Daniel (1968) folgerte aus diesen Ergebnissen, daß adrenerge β -Rezeptoren vor allem auf der glatten Muskulatur und α -Rezeptoren auf nervösen Strukturen sitzen. Morphologisch bestätigt wird diese Ansicht durch eine Untersuchung von Wikberg (1977), der α -Rezeptoren auf cholinergen Nervenfasern und β -Rezeptoren an glatten Muskelzellen des Meerschweinchenileums nachweisen konnte. Bauer (1982) und Bauer und Kuriyama (1982) befaßten sich vor kurzem nochmals intensiv mit der Verteilung adrenerger Rezeptoren am Meerschweinchenileum. Sie kamen zu ähnlichen Schlußfolgerungen wie Daniel. Ihre Ergebnisse zeigten, daß an der glatten Muskulatur und im myenterischen Plexus zwischen präsynaptisch inhibitorischen (α_2), post-

synaptisch inhibitorischen (α_2 und β) und postsynaptisch excitatorischen (α_1) Adrenorezeptoren differenziert werden kann. Die Dichte der excitatorischen α_1 -Rezeptoren ist im terminalen Ileum am größten (Munro, 1951). Umgekehrt dazu verhält sich die Verteilung der postsynaptisch inhibitorischen (an den glatten Muskelzellen sitzenden) α_2 -Rezeptoren.

Zusammenfassend sagt Gershon, daß die vorläufigen Ergebnisse die Existenz eines reziprok-inhibitorischen, adrenerg-cholinergen, axo-axonalen Kontrollmechanismus möglich erscheinen lassen.

5-Hydroxytryptamin (5-HT)

5-HT läßt sich in hohen Konzentrationen in allen Säugertierdärmen nachweisen. Obgleich der Hauptanteil davon sich in der Schleimhaut befindet, sind auffällige Mengen von 5-HT auch in der Muscularis externa mit dem Plexus myentericus vorhanden. Eingehende Untersuchungen an Neuronen organotypischer Zellkulturen auf 5-HT-spezifische Aufnahmemechanismen, spezielle Trägerproteine und ein bestimmtes Enzym hin (Tryptophandecarboxylase) erbrachten den histologischen Beweis, daß im Auerbachschen Nervengeflecht intrinsische Neuronen enthalten sind, die eindeutige serotonerge Stigmata aufweisen. Es wären die ersten solcher Nerven im peripheren Nervensystem (Gershon, 1981). Neben morphologischen Arbeiten gibt es elektrophysiologische Studien, die 5-HT als Neurotransmitter von Interneuronen in den enteralen Plexus ausweisen (Wood und Mayer, 1978).

Die physiologische Bedeutung von 5-HT ist noch unklar. Möglicherweise spielen serotonerge Nervenwege eine Rolle beim peristaltischen Reflex. Das Aufbringen von 5-HT auf die Schleimhaut fördert die Peristaltik, das Auftropfen auf die seröse Darmoberfläche hemmt sie. Bühlbring und Gershon (1967) nehmen weiter an, daß 5-HT im Plexus myentericus der Säuger eine Überträgerfunktion bei der vaga-

len inhibitorischen Innervation des Magens einnimmt.

Eine Übersicht über die pharmakologischen Effekte von 5-HT am Darm gibt Daniel (1968):

"5-HT weist sowohl eine direkt wie indirekt kontrahierende Wirkung an der intestinalen Muskulatur auf. Welcher Effekt überwiegt, das variiert von Spezies zu Spezies und von Darmabschnitt zu Darmabschnitt. Am terminalen Meerschweinchenileum, Rattencolon, Maus-, Ratten- und Kükenmagen sowie an mehreren humanen Darmsegmenten ist in kleinen Dosierungen die direkte Wirkung vorherrschend. Eine Hemmung ist möglich durch 5-HT-Antagonisten, die auch an anderen glattmuskulären Organen wie der Gebärmutter wirksam sind; zu nennen sind hier Methysergid, Bromolyserginsäure, Phenothiazin-Derivate oder Phenoxybenzamin.

Der indirekte Effekt überwiegt am restlichen Meerschweinchenileum und an der Pylorusregion des Hundemagens. Hier wird eine direkte Stimulierung der Muskulatur durch 5-HT nur mit hohen Dosen unter Atropinzusatz erzielt. In der Ringmuskulatur des Meerschweinchens dominiert allgemein der indirekte Mechanismus.

Die indirekte Wirkung wird so erklärt, daß durch die 5-HT-Stimulierung des intramuralen Nervensystems letztendlich Ach freigesetzt wird, das die Kontraktion auslöst. Substanzen wie Atropin, Hyoscin, Morphin, Lokalanästhetika, Botulinustoxin, hohe Dosen Nicotin, Dimethyl-phenyl-Piperazin (DMPP) und in einigen Fällen Hexamethonium (beim Meerschweinchen z.B. nicht) hemmen den indirekten Effekt. Wahrscheinlich wird diese Inhibition erzielt über einen Eingriff in cholinerge Reaktionsketten. Von keinem der aufgezählten Stoffe kann mit Sicherheit angenommen werden, daß er auf serotonerge Rezeptoren des intrinsischen Nervensystems wirkt. Es gibt Hinweise, daß 5-HT-Analoga, Phenylguanidin, ähnliche Guanidine und Indolalkylamine mit denselben nervösen Rezeptoren reagieren wie 5-HT, während sie keinen Einfluß auf muskuläre serotonerge Bindungsstellen haben sollen.

Es wird ebenfalls von antagonistischen Wirkungen von ATP, ADP, AMP und Adenosin gegenüber 5-HT- und Nicotin-induzierten Kontraktionen am Meerschweinchen- und Kaninchenileum, nicht aber am Ratten-, Kaninchenuterus und an der Kaninchenaorta berichtet. Ach-, Histamin-, Angiotensin- und Vasopressin-Kontraktionen wurden durch ATP nicht beeinträchtigt. Es wurde deshalb vermutet, daß Adeninderivate die Stimulierung intrinsischer cholinergischer Neurone durch 5-HT verhindern.

Da es sich um einen kompetitiven Antagonismus handelt, sind möglicherweise neuronale 5-HT-Rezeptoren eingeschaltet. Die ATP-Wirkung auf 5-HT könnte jedoch auch über Bindungsinteraktionen erklärt werden, da Prusoff (1960 und 1961) und Baker et al. (1959) herausfanden, daß in enterochromaffinen Granula und Thrombozyten 5-HT mit ATP assoziiert ist.

Nach Studien von Hobbiger (1958) entwickelt auch die γ -Aminobuttersäure (GABA) antagonistische Eigenschaften gegenüber indirekten 5-HT-Wirkungen am Meerschweinchenileum. Dagegen ist GABA fast wirkungslos an muskulären 5-HT-Rezeptoren des Meerschweinchenuterus und Rattenduodenums. GABA beeinflusst nicht die durch Ach und Histamin erzeugten Kontraktionen; d.h. eine direkte myogene Wirkung von GABA ist auszuschließen. Für einen Eingriff auf Rezeptorenbasis spricht weiter, daß GABA manchmal effektiver als Nicotin die 5-HT-Reizantwort hemmt und daß Manipulationen an der GABA-Struktur den 5-HT-Antagonismus verändern. Dabei scheint GABA nicht über dieselben Rezeptoren wie Morphin zu wirken. Eine Vorbehandlung des Versuchspräparates mit Morphin führt zu einer Reduktion des folgenden Morphineffektes (Tachyphylaxie). Eine Vorbehandlung mit GABA führt zu keiner Beeinträchtigung der Morphinwirkung. Interpretierend kann gesagt werden, daß 5-HT mehrere Angriffsorte hat, um eine vermehrte oder auch eine verminderte Motilität zu vermitteln. Seine direkt muskulären Wirkungen scheinen weniger wichtig zu sein als die indi-

rekten, die die neuronale Aktivität verändern. Die 5-HT-Rezeptoren an den intestinalen Muskeln gleichen denen in anderen Organen wie dem Uterus. Sie sind empfindlich gegenüber LSD und dessen Derivaten.

Die neuronalen Wirkorte scheinen dagegen nicht in allen Geweben die gleichen zu sein. Die Eigenschaften dieser Rezeptoren sind noch unklar. Sie unterscheiden sich von denen an der glatten Muskulatur dadurch, daß sie unempfindlich sind gegenüber LSD. Untereinander differieren sie in ihrem Verhalten gegenüber Hexamethonium. Einige neuronale Rezeptorwirkungen sind durch Ganglienblockade zu beeinflussen, andere nicht. Durch Vergleiche von Resultaten, die am Ganglion cervicale cranialis der Katze und an verschiedenen Darmpräparaten gewonnen wurden, ist der neuronale Angriffspunkt von 5-HT als nicht-nicotinerg, postganglionärer Rezeptor definiert worden. Die pharmakologischen Hinweise hierfür, nämlich daß 5-HT-Kontraktionen durch hohe Dosen von Nicotin geblockt und durch Hexamethonium nicht gehemmt werden, sind nicht in allen Präparaten reproduzierbar. Weiter ist noch nicht abgesichert, daß die Wirkorte von Nicotin und Hexamethonium ausschließlich intestinale cholinerge Ganglien sind."

Purinnukleotide

Mitte der sechziger Jahre wurden die ersten Vermutungen über die Existenz eines dritten, weder cholinergen noch adrenergen Neuronentyps im enteralen Nervensystem geäußert. In vielen Experimenten riefen ATP und andere Adenosinderivate Membranhyperpolarisationen und Relaxationen des Darms hervor ähnlich den Effekten, die durch die Stimulation nicht-adrenerger und nicht-cholinerges Nerven erreicht worden waren. Dies veranlaßte Burnstock anzunehmen, daß Purinnukleotide, wahrscheinlich ATP, die Überträgerstoffe dieser inhibitorischen Nervenpopulation sind (Burnstock et al., 1970; Burnstock, 1972).

Gustafsson et al. (1978) studierten am isolierten Meerschweinchenileum den Effekt von Adenosin auf die cholinerge Erregungsübertragung zur glatten Muskulatur (neuroeffektorische Transmission). Adenosin bewirkte eine dosis- und umgekehrt frequenzabhängige Hemmung der durch elektrische, transmurale Nervenstimulation angeregten Kontraktionen. Die Blockade der adrenergen Neurotransmission hatte keinen ändernden Einfluß auf den hemmenden Effekt von Adenosin. Ebenso blieben durch Ach, Histamin und direkte elektrische Stimulierung der glatten Muskulatur hervorgerufene Kontraktionen unverändert, während Muskelzuckungen, die durch 5-HT, Angiotensin und hohe K^{+} -Konzentrationen ausgelöst wurden, mit Adenosin unterdrückt werden konnten. Adenosin verminderte merklich die Ach-Abgabe nach Nervenstimulation, hatte aber wenig Auswirkungen auf den Ruheausschlag von Ach.

Die Ergebnisse zeigten, daß Adenosin präsynaptisch in die cholinerge Transmission eingreift und dabei die Ach-Freisetzung reduziert.

Gustafsson zog als Fazit seiner Untersuchungen, daß diese Erkenntnisse von funktioneller Bedeutung sein könnten, da Adeninverbindungen während der Reizung intestinaler Nerven freigesetzt werden.

Dowdle und Maskes Untersuchungen (1980) erbrachten ähnliche Ergebnisse. Sie studierten ebenfalls die Effekte von Adenosin und Adenosinderivaten (ATP, ADP, AMP, NAD^{+} , NADP und NADPH) am isolierten Meerschweinchenileum. Bei elektrischer Reizung mit niedrigfrequenten ($= 1/sec$), supramaximalen Impulsen wurde eine dosisabhängige Hemmung der kontraktilen Reizantwort festgestellt. Nicotin-induzierte, Hexamethonium-sensitive Kontraktionen wurden durch die Purinverbindungen unterdrückt. Ach-Konzentrationen blieben unbeeinflusst. Wie bei Gustafsson wurde eine Abnahme des Ach-Ausschlags festgestellt.

Zusätzlich untersuchten Dowdle und Maske den Einfluß unterschiedlicher Ca^{++} -Konzentrationen auf die Purinnukleo-

tidwirkung. Die Stärke der purinergen Inhibition war negativ gekoppelt mit der Höhe der Ca^{++} -Konzentrationen (1-5 mM; ein Bereich, in dem die Wirkung von exogen gegebenem Ach nicht beeinflußt wird). Die Hemmung konnte durch Theophyllin antagonisiert und durch Dipyridamol gesteigert werden. Beide Aktionen waren empfindlich gegenüber Ca^{++} -Konzentrationsveränderungen.

Ihre Ergebnisse kommentieren die Autoren in folgender Weise: Adenosinverbindungen wirken präsynaptisch auf postganglionären cholinergen Neuronen. Die Wirkung wird möglicherweise durch eine Modulation des intraaxonalen Ca^{++} -Gehalts vermittelt, d.h. die Ach-Freisetzung vom Plexus myentericus wird vermindert durch Abnahme der Verfügbarkeit von intrazellulärem Ca^{++} .

Trotz vieler überzeugender Hinweise existieren noch Zweifel, ob ATP und verwandte Verbindungen die inhibitorischen Transmitter sind, für die sie angesehen werden. So berichten unter anderem Furness und Costa (1973) und Huizinga et al. (1981) über muskelkontrahierende Wirkungen am Meer-schweinchenileum. Dabei sollen Prostaglandine bzw. eine Anregung der Prostaglandin-Synthese durch energiereiche Verbindungen wie ATP und ADP eine gewisse Rolle spielen.

Abgesehen von der Streitfrage nach dem Transmitter ist die Tatsache unbestritten, daß nicht-adrenerge inhibitorische Neuronen im Darm als eine eigenständige Einheit vorhanden sind. Sie besitzen wahrscheinlich nicotinerge und serotonerge Rezeptoren (Gershon, 1981).

Peptide

Es konnten mehrere Peptide aus Darmpräparaten isoliert werden, denen eine Neurotransmitter-, zumindest aber eine Neuromodulatorenfunktion zugesprochen wird. Erste Anhaltspunkte auf peptidspeichernde Axone im Darm erbrachten ultrastrukturelle Studien des Auerbachschen Plexus. Viele Nervenendigungen in diesen Bildern waren mit sehr großen (100-150 nm), im Zentrum kompakten Vesikeln gefüllt und

ähnelten in der Weise neurosekretorischen Axonen des Hypophysenhinterlappens.

Um extrinsische von intrinsischen Neuronen zu unterscheiden, wird heute mit Organzellkulturen gearbeitet. In den Kulturen sterben mit der Zeit extrinsische Nervenfortsätze ab, während darmeigene Nerven überleben. Auf diese Art konnten vier Peptide als intestinalen Nerven zugehörig identifiziert werden. Es sind dies Substanz P, Somatostatin, Enkephalin und vasoaktive intestinale Polypeptide (VIP) (Gershon, 1981).

Über ihre physiologischen Bedeutungen wird bisher nur spekuliert. Ein Weg zur Aufhellung ihrer Funktion könnte sein, die Lagebeziehungen peptiderger Nerven zu untersuchen.

Jessen et al. (1980) z.B. vermuten aufgrund morphologischer Untersuchungen, daß Substanz P und VIP die Aktivitäten der Plexus myentericus und submucosus koordinieren. Mit immunozytochemischen Methoden und dem Radioimmunoassay konnten sie in der Darmwand entgegengesetzt verlaufende, VIP bzw. Substanz P enthaltende Nervenfasern nachweisen. Die Nerven verbanden den Auerbachschen und den Meißnerschen Plexus miteinander.

Pharmakologische Untersuchungen wurden vor allem mit Substanz P durchgeführt. Erst neuere Arbeiten konnten auf gereinigtes Material zurückgreifen, das reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse ermöglichte. Substanz P ist deshalb von besonderem Interesse, da sie in hohen Konzentrationen auch im ZNS vorkommt.

Am Darm besitzt dieser Stoff einen direkt kontrahierenden Effekt auf die longitudinale Muskulatur. Es ist noch kein selektiver Antagonist bekannt (Daniel, 1968).

Ambache et al. (1970) beobachteten Atropin-resistente, nicht-cholinerge Spasmen der Längsmuskulatur des Meerschweinchenileums, wenn sie die Darmstücke unter 'field stimulation'-Bedingungen mit hochfrequenten Impulsen ($\geq 10/\text{sec}$) reizten. Die Kontraktionen konnten nicht auf

eine direkte Stimulierung der glatten Muskulatur zurückgeführt werden. Die Autoren vermochten jedoch nicht die Natur des excitatorischen Transmitters näher zu definieren. Franco et al. (1979) vermuteten, daß wahrscheinlich die von intrinsischen Nerven freigesetzte Substanz P die Spasmen auslöst. Bartho et al. (1981) und Gintzler und Scalisi (1982) unterstützten Francos Ansicht. Sie untersuchten darüber hinaus den Einfluß von Opiaten auf die Wirkung der Substanz P. Gintzler und Scalisi reizten mit Atropin vorbehandelte, ganze Ileumstücke elektrisch (transmural) mit 10-20 Impulsen/sec. Die nicht-cholinergen Kontraktionen wurden durch Tetrodotoxin und nach Desensibilisierung des Präparates mit Substanz P signifikant reduziert. Morphin und Enkephalin hemmten ebenfalls die nicht-cholinergen Muskelzuckungen, hatten aber keinen Einfluß auf Kontraktionen, die durch exogen zugegebene Substanz P initiiert wurden. Eine Vorbehandlung des Präparates mit Hexamethonium reduzierte die Höhe der nicht-cholinergen Kontraktionen um 35%, bewirkte aber keine Änderungen der hemmenden Wirkung von Morphin oder anderen Opiatpeptiden. Bei dem Morphineffekt im 20/sec-Bereich spielten wohl daher nicotinerge cholinerge Mechanismen keine Rolle. Die Vorbehandlung mit Naloxon verstärkte in Gegenwart von Hexamethonium die nicht-cholinergen Kontraktionen. Die Aktivität von exogener Substanz P wurde nicht beeinträchtigt.

Die Autoren leiteten aus dem pharmakologischen Bild ab, daß Substanz P Überträgerstoff im enteralen Nervensystem ist und daß deren Freisetzung durch endogene Opiate wie Enkephalin moduliert werden kann. Bartho et al. (1981) kamen zu demselben Fazit.

Prostaglandine (PG)

Prostaglandine der E- und F-Reihe erregen die longitudinale Muskulatur des Darms. Sie scheinen direkt auf die Muskulatur einzuwirken. Eventuell spielen die PGs eine

Rolle im enteralen Nervensystem, sie sind aber nicht die von Ambache und Freeman (1968) angenommenen excitatorischen Transmitter der nicht-cholinergen Kontraktionen.

Die Prostaglandine sind weiter in Zusammenhang mit den 'Rebound'-Kontraktionen gebracht worden. Diese besondere Form der Kontraktion folgt häufig einer tiefen Relaxation nach selektiver Reizung nicht-adrenerger inhibitorischer Nerven. Dagegen steht die Hypothese von Furness (1971), die das 'Rebound'-Phänomen unabhängig von jeglichen nervösen Strukturen als allein myogenes Ereignis sieht. Darüber hinaus sehen einige Autoren in den Prostaglandinen die Vermittler ATP-induzierter Kontraktionen. Diese konnten nämlich durch Indomethacin, einen PG-Synthetasehemmer, reduziert werden (Gershon, 1981).

Miller und Shaw (1981) verwendeten bei ihren Versuchen einen ähnlichen Hemmstoff der PG-Biosynthese, Paracetamol. Mit diesem Stoff konnten sie die Kontraktionsstärke elektrisch gereizter Ileumstücke des Meerschweinchens verringern. Durch die Zugabe von PGE_1 und PGE_2 wurde der hemmende Effekt von Paracetamol rasch aufgehoben. Da Miller und Shaw davon ausgingen, daß bei der angewendeten elektrischen Stimulierung (supramax. Reize, 0.1 Impulse/sec, 1 msec Reizbreite) vorwiegend postganglionäre cholinerge Nerven erregt werden, interpretierten sie die Ergebnisse dahingehend: Prostaglandine erleichtern die cholinerge Transmission.

Kottegoda (1970) weist auf pharmakologische Untersuchungen hin, die besagen, daß PGE_1 und PGE_2 selektiv die circuläre Muskulatur des Meerschweinchenileums bei elektrischer Stimulierung hemmen. Die excitatorische Wirkung bei der Substanzen an der longitudinalen Muskelschicht bleibt unbestritten. Kottegoda schließt daraus, daß die PGEs eventuell inhibitorische Überträgerstoffe zur Ringmuskulatur sein könnten.

γ -Aminobuttersäure (GABA)

In einem Übersichtsartikel ist Jessen (1981) auf GABA und seine mögliche Neurotransmitterfunktion im enteralen Nervensystem ausführlich eingegangen. Hier einige Auszüge daraus:

"GABA ist ein bekannter inhibitorischer Neurotransmitter des ZNS. Bis vor kurzem war man allgemein der Überzeugung, daß GABA-erge Neuronen ausschließlich im Gehirn und nirgends im peripheren Nervensystem vorkommen. Es verdichten sich jedoch im Moment die Hinweise auf das Vorhandensein solch einer Nervenpopulation im enteralen Nervensystem. Der Hauptpunkt, der dafür spricht, ist der Nachweis enteraler Neuronen, die Transportstellen hoher Affinität für GABA besitzen. Unterstützt wird die Annahme weiter durch Ergebnisse von Untersuchungen über die Konzentrationen von GABA und der Glutamatdecarboxylase (GAD = spezifisches Enzym der GABA-Synthese) in der Darmwand, über die Effekte spezifischer Rezeptorenblocker auf die Darmmotilität und die Wirkung dieser Antagonisten auf die GABA-Freisetzung am Darm.

Bevor die pharmakologischen Eigenschaften von GABA besprochen werden sollen, muß auf einen kritischen Punkt in der Interpretation der Arbeiten aufmerksam gemacht werden, die sich auf exogenes GABA beziehen. Man wird leicht versucht sein, die Funktion GABA-erger Neuronen mit den neuronalen GABA-Rezeptoren und der glialen GABA-Aufnahme zu verknüpfen. Diese Merkmale besitzen aber auch andere Anteile des autonomen Nervensystems (z.B. sympathische und sensorische Ganglien), ohne GABA-erge Neuronen aufzuweisen. GABA-Rezeptoren und gliale Aufnahmemechanismen müssen nicht notwendigerweise mit der GABA-ergen synaptischen Neurotransmission verbunden sein. Das heißt, es ist schwierig, die funktionellen Studien von GABA am Darm zu deuten, da die Beobachtungen auch auf extrasynaptische GABA-Rezeptoren zurückgeführt werden können. Ein Ausweg aus diesem Dilemma ist die Anwendung spezifischer Antagonisten, um die endo-

gene GABA-Aktivität zu blocken. Solche Studien, die allerdings erst in ihren Anfängen stecken, lassen vermuten, daß GABA-erge Nervenwege in einige intestinale Reflexe involviert sind.

Vor rund 20 Jahren war es Hobbiger (1958), der GABA in die Diskussion als möglichen Überträgerstoff am Darm einbrachte. Er untersuchte die Wirkung von exogener GABA an isolierten Darmpräparaten von Meerschweinchen, Kaninchen und Ratten. Die Resultate waren komplex und zum Teil speziesabhängig.

Beim Meerschweinchen, wo die Wirkungen am Ileum am ausgeprägtesten waren, rief GABA Kontraktionen und/oder Relaxationen hervor. Die Kontraktionen konnten durch Atropin gehemmt werden. In einem gewissen Ausmaß antagonisierte GABA Ach-, Histamin- und Nicotin-Kontraktionen. GABA unterdrückte weiter durch intraluminaler Druckerhöhung ausgelöste peristaltische Wellen.

Neben anticholinergen und antinicotinergen Eigenschaften wurde noch ein beträchtlicher antiserotonerger Effekt von GABA festgestellt (Hobbiger, 1958; Inouye et al., 1960). Daraus wurde abgeleitet, daß GABA auf solche neuronalen Elemente einwirkt, die in der nicotinergen und serotonergen Erregungsübermittlung eingeschaltet sind.

Erst zwei Jahrzehnte später bestätigten Krantis et al. (1980) die Beobachtungen von Hobbiger und von Inouye. Sie stellten darüber hinaus fest, daß die Auswirkungen von GABA auf das Meerschweinchenileum durch Tetrodotoxin aufgehoben wurden. An nervenfreien Präparaten konnten sie mit GABA keinerlei Reizantwort erzielen. Krantis interpretierte seine Ergebnisse folgendermaßen: GABA erregt nur Rezeptoren an nervalen Strukturen, und zwar solche, die auf cholinergen-excitatorischen und intrinsischen-inhibitorischen Nervenfasern sitzen. Durch eine derartige Rezeptorenverteilung können die komplexen Reaktionen wie Kontraktion und/oder Relaxation nach GABA-Gabe erklärt werden.

In einer weiteren Arbeit zeigten Krantis und Kerr (1981), daß die klassischen GABA-Rezeptorenblocker Bicucullin und Picrotoxin spezifisch GABA-Kontraktionen antagonisieren. Ach- und Histamin-Kontraktionen bleiben unbeeinflußt durch die Antagonisten. Die Cl^- -Ionophorenblocker Furosemid und Piretanid reduzieren die Höhe von GABA-Kontraktionen. Auf motorische Reizantworten, die durch Ach oder cholinerge Nervenstimulation hervorgerufen wurden, hatten die Ionophorenblocker keinen Einfluß. Deshalb vermutet Krantis, daß GABA an excitatorischen cholinergen Nerven über spezifische Rezeptoren wirkt, die an Cl^- -abhängige erregende Mechanismen gekoppelt sind.

Im Widerspruch zu den Aussagen von Krantis steht die Arbeit von Rikimaru und Suzuki (1971). Sie registrieren keine Hemmung von GABA-Kontraktionen (Präparat: *Taenia coli* vom Meerschweinchen) durch Atropin. Das bedeutet, daß bei diesem Darmpräparat die Erregung letztlich nicht über cholinerge Nerven abläuft. Die Muskelzuckungen mögen durch direkte Einwirkung von GABA auf die Muskelzellen erreicht worden sein. Denkbar ist ebenfalls, daß GABA indirekt erregend wirkt durch die Freisetzung eines anderen excitatorischen Transmitters."

Interessant erscheint unter diesem Aspekt die Veröffentlichung von Girdhar und Dhumal (1981). Sie wählten als Versuchspräparat das isolierte Kaninchenjejunum. In niedrigen Konzentrationen bewirkte GABA eine Tonussteigerung des Darms, die unempfindlich war gegenüber Atropin und Mepyramin. Die Tonzunahme ging einher mit einer erhöhten Abgabe von Prostaglandin-ähnlichen Stoffen ins Medium. Eine Vorbehandlung des Präparates mit Indomethacin unterdrückte den erregenden Effekt von GABA, und der Gehalt an Prostaglandin-ähnlichen Verbindungen sank signifikant.

Höhere Konzentrationen von GABA riefen Relaxationen hervor, die kombiniert waren mit einer Abnahme Prostaglandin-ähnlicher Substanzen in der Badflüssigkeit. Der relaxierende Effekt wurde zu 30% durch Phentolamin aufgehoben.

Der hemmende Effekt sympathischer Nervenreizung wurde durch GABA potenziert.

Girdhar und Dhumal folgerten aus ihren Ergebnissen, daß der erregende Effekt von GABA durch eine Freisetzung von Prostaglandinen vermittelt werden könnte. Da die Tonusabnahme resistent war gegenüber verschiedenen Antagonisten, wurde eine Bedeutung von Ach, Histamin und 5-HT für die GABA-Wirkung ausgeschlossen.

Bei höheren Konzentrationen wirkte GABA inhibitorisch. Die Potenzierung der sympathischen Hemmung und der teilweise Antagonismus durch Phentolamin lassen vermuten, daß die Freisetzung von NA zur Relaxation durch GABA beiträgt.

2.2 Antiepileptica am ZNS

Die Epilepsie ist eine chronische Krankheit, die gekennzeichnet wird durch ein anfallsweises Auftreten folgender Symptome: Bewußtseinsstörungen (Bewußtseinstrübungen, Bewußtlosigkeit) und abnorme, motorische Erscheinungen (Sterotypen, Zuckungen, tonische und klonische Krämpfe).

Dem epileptischen Anfall liegt eine extreme Synchronisation der Neuronenaktivität zugrunde. 'Schrittmacher' ist eine mehr oder minder große Gruppe von Neuronen, deren Membranpotential so instabil ist, daß sie unter bestimmten Bedingungen abnorm aktiv werden (Jurna 1977).

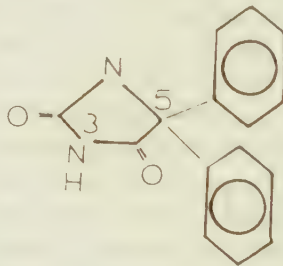
Zu den pathophysiologischen Spontanentladungen kann es durch die Störung spezifischer Membranfunktionen und des extra- und intrazellulären Ionenhaushalts kommen. Eine Verschiebung des Gleichgewichts excitatorischer und inhibitorischer Mechanismen im ZNS führt ebenfalls zur erhöhten Krampfbereitschaft. Es treten unphysiologische Depolarisationen von Zellmembranen auf als Folge einer gesteigerten Aktivität erregender und/oder als Folge eines Mangels an hemmender Neuronentätigkeit.

Antiepileptica könnten auf zwei Hauptwegen das Anfalls-

geschehen unterdrücken. Einmal, indem sie die abnorme Erregbarkeit pathologischer Neuronen vermindern; andererseits, indem sie die Ausbreitung und das Übergreifen der Erregung epileptischer Zellen auf normale Neuronengruppen verhindern. Alle Antiepileptica besitzen die zweite Eigenschaft. Sie erhöhen, wenn auch in unterschiedlichem Maße, die Reizschwelle der Neuronenmembranen, hemmen die post-tetanische Potenzierung (PTP) der synaptischen Transmission, verlängern die synaptische Erholungszeit oder potenzieren die prä- und postsynaptische Inhibition (Löscher, 1980).

Im folgenden Kapitel wird ein kurzer Überblick über die sechs untersuchten Antiepileptica gegeben, wobei die Betrachtung ihrer möglichen Wirkungsweise sich im wesentlichen auf den Einfluß auf die synaptische Erregungsübertragung im ZNS und der dabei beteiligten Überträgersubstanzen beschränkt.

2.2.1 Phenytoin



Phenytoin wurde 1908 synthetisiert. Es dauerte bis 1937, bevor Putnam und Merritt eine klinische Untersuchung als Antiepilepticum vornahmen. Im Gegensatz zu Brom und Phenobarbital, deren antikonvulsive Eigenschaften eher zufällig entdeckt wurden, war Phenytoin das Resultat zielgerichteter Forschung unter nichtsedierenden Strukturverwandten von Phenobarbital, die fähig waren, Krämpfe bei Versuchstieren zu unterdrücken, die durch Elektroschocks hervorger-

rufen worden waren. Die klinischen Untersuchungen demonstrierten die Überlegenheit von Phenytoin gegenüber den Bromiden und Phenobarbital. Ein Jahr nach der Entdeckung seiner antiepileptischen Effizienz wurde Phenytoin zur symptomatischen Epilepsiebehandlung eingeführt.

Mit der Entdeckung von Phenytoin begann ein neuer Abschnitt in der Epilepsieforschung und ihrer Behandlung. Es wirkte in therapeutischen Dosierungen nicht sedierend und unterstrich zum ersten Mal, daß Antiepileptica nicht notwendigerweise hypnotisch sein müssen. Und da es ungleich zu Phenobarbital effektiv bei Temporallappenepilepsien eingesetzt werden konnte, ermutigte die Entdeckung von Phenytoin die Suche nach basalen Unterschieden der verschiedenen Krampfbilder und nach selektiven Antikonvulsiva (Rall und Schleifer, 1981; Woodbury, 1980). Phenytoin ist am wirksamsten bei großen, generalisierten Krampfanfällen, der sog. Schlafepilepsie. Es zeitigt auch guten Erfolg gegenüber psychomotorischen und Jackson-Anfällen (Riemann, 1967). Das heißt, Phenytoin ist ein Mittel, das bei allen Arten von Anfallskrankheiten außer Absencen eingesetzt werden kann.

Eine der am einfachsten zu demonstrierenden Eigenschaften von Phenytoin bei erwachsenen Tieren aller Spezies ist die Fähigkeit, die Entwicklung maximaler Anfallsaktivität und die Ausbreitung der Krampfpotentiale vom epileptogenen Focus zu begrenzen.

Im Gegensatz zu Phenobarbital hebt Phenytoin in einzelnen Dosierungen bei erwachsenen Versuchstieren nicht die Krampfschwelle bei frequenter elektrischer Stimulierung (60/sec) des Gehirns oder bei Strychnin-, Picrotoxin- und Pentetrazolkrämpfen an. Im Gegenteil, es potenziert subkonvulsive und konvulsive Dosen von Picrotoxin und Pentetrazol und verstärkt Anfälle, die durch Inhalation von 30% CO₂, durch Entzug von 50% CO₂ und nach Gabe hoher Dosen von Salicylaten ausgelöst werden. Bei niedrigfrequenter Reizung des ZNS (6/sec) wiederum hebt Phenytoin die

Krampfschwelle an. Phenytoin normalisiert die durch Hypo-natriämie, Cortisol oder Thyroxin gesenkte Reizschwelle bei 60/sec-Stimulierung. Das heißt: Phenytoin stellte die normale Erregbarkeit hypererregbarer Strukturen wieder her (Woodbury, 1980).

Einer der auffälligsten Effekte von Phenytoin ist die Modifizierung des Bildes der maximalen Elektroschock-Krämpfe (= MES-Krämpfe, Modell für Grand mal-Epilepsien). Die charakteristische tonische Phase kann ganz aufgehoben sein, während die klonischen Anteile übertrieben und verlängert erscheinen. Mittels des EEGs kann dabei eine Herabsetzung der Spannung und der Frequenz konvulsiver Entladungen nachgewiesen werden.

Verschiedentlich wird angenommen, daß ein excitatorischer Effekt auf das Kleinhirn zur antikonvulsiven Wirkung von Phenytoin beiträgt. Es sollen inhibitorische Bahnen aktiviert werden, die zum Cortex ziehen. Versuche ergaben, daß eine Verminderung der Aktivität cortikaler epileptogener Foci durch Phenytoin begleitet wurde von einer gesteigerten cerebellaren Purkinje-Zell-Aktivität. Nach der Entfernung des Kleinhirns stieg die cortikale, focale Anfallstätigkeit, und Phenytoin war weniger wirksam.

Interessant ist ebenfalls die Abhängigkeit der Effektivität vom Ausreifungsgrad des Gehirns. In der frühen postnatalen Phase besitzt Phenytoin ausgeprägte erregende Wirkungen auf das ZNS. Bei weiterer Entwicklung und Ausreifung des ZNS wird die excitatorische Aktion schwächer und der antikonvulsive Effekt deutlicher parallel zur Ausbildung postsynaptischer inhibitorischer Systeme (Vernadakis and Woodbury, 1969).

Die PTP synaptischer Transmission im Rückenmark und Ganglion stellatum der Katze wird durch Phenytoin unterdrückt. Hierfür werden recht hohe Konzentrationen benötigt, so daß schwer abzuschätzen ist, ob die Unterdrückung der PTP zur antiepileptischen Effektivität beiträgt (Rall und Schleifer, 1981).

Zur Erklärung der Wirkungsmechanismen wird in erster Linie auf die Veränderung der Membranpermeabilität und ionaler Transportphänomene unter Phenytoin verwiesen. Möglicherweise kann als sekundäres Ereignis eine Beeinflussung der Freisetzung und des Stoffwechsels von Neurotransmittern angenommen werden (Meldrum et al., 1977).

Die Hauptaktionen betreffen die Na^+ - und Ca^{++} -Bewegungen an zellulären und subzellulären Membranen, wobei aktive und passive Transportmechanismen Veränderungen unterliegen. In erregbaren Geweben scheint Phenytoin zu einer Abnahme des passiven Na^+ -Einstromes in die Zelle zu führen. Das bewirkt nicht nur die Abnahme von intrazellulärem Na^+ , sondern auch von intrazellulärem Ca^{++} mit dem Resultat einer Blockade der Transmitterabgabe. In einigen Synapsen und bei kleinen Dosierungen kann Phenytoin die Aufnahme von intrazellulärem Ca^{++} durch subzelluläre Partikel hemmen und dadurch den Gehalt an Ca^{++} im Zytosol steigern. Das würde theoretisch eine vermehrte Transmitterabgabe bedeuten.

Ein anderer Effekt, welcher gleichfalls bedingt wird durch den Einfluß auf Phospholipid-Calcium-Interaktionen in der Zellmembran, ist die Stimulierung des aktiven $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Transportsystems an synaptischen Membranen. Das trifft vor allem zu, wenn das Transportsystem Belastungen ausgesetzt ist wie im epileptogenen Focus. Der Na^+ -Gradient steigt. Dies vermindert den Ca^{++} -Influx und reduziert sowohl die Transmitterabgabe von Nervenendigungen als auch die aktive Wiederaufnahme (Woodbury, 1980).

So berichten Weinberger et al. (1976) von einer Hemmung der NA-Wiederaufnahme nach Phenytoin. Auf diesem Wege könnten durch Akkumulierung von NA an den Synapsen der inhibitorische Tonus im ZNS angehoben werden. Meyer und Frey (1973) meinen, daß NA eine dominierende Rolle für die Wirkung von Phenytoin bei Krämpfen, die durch Elektroschocks induziert werden, spielt. Demgegenüber stehen die Ausführungen von Herz (1970). Reserpin, das die zentralen Mono-

aminspeicher entleert, vermindert die Wirksamkeit der meisten, wenn nicht aller Antiepileptica. Der Einfluß von Reserpin wird in unterschiedlichem Maße spürbar. Die antikonvulsive Wirkung von Phenytoin wird nur mäßig abgeschwächt. Auch in Versuchen mit Rezeptorenblockern (α - und β -Blocker) war keine Abschwächung der Wirksamkeit festzustellen. Doch schwanken die Ergebnisse je nach Versuchsbedingungen. Möglicherweise hängt das damit zusammen, daß die Unterscheidung adrenerger α - und β -Rezeptoren im ZNS offenbar auf Schwierigkeiten stößt (Herz, 1970).

Nicht nur Noradrenalin, sondern auch die anderen zentralen biogenen Amine Dopamin und 5-Hydroxytryptamin besitzen eine inhibitorische Wirkung auf die Krampfempfindlichkeit. Ein Anstieg der Konzentration dieser Stoffe könnte einen antikonvulsiven Effekt bedingen.

Nach Meldrum et al. (1977) steigern hohe Dosen von Phenytoin den zentralen 5-HT-Gehalt. Da Phenytoin die Akkumulationsrate von 5-HT bei Tieren, die mit Monoaminoxidase vorbehandelt wurden, erhöhen kann, läßt dieses Ergebnis eine vermehrte Synthese vermuten.

GABA ist wohl der wichtigste inhibitorische Transmitter im ZNS. Man unterscheidet zwei verschiedene Hemmechanismen von GABA. Zum einen hyperpolarisiert GABA postsynaptische Nervenzellmembranen und verringert so die Erregbarkeit dieser Strukturen (postsynaptische Inhibition). Zum anderen verhindert GABA die Freisetzung erregender Transmitter durch eine Depolarisation präsynaptischer, terminaler Axone (präsynaptische Inhibition) (Löscher, 1980). Substanzen, die die GABA-Aktivität im ZNS einschränken, rufen Anfälle hervor. So sind Bicucullin und Picrotoxin Krampfgifte bei allen Tierspezies. Die Hemmung der GABA-Synthese, z.B. durch Hydrazide, führt ebenfalls zu epileptischen Anfallsformen. Diese Krämpfe können durch GABA unterdrückt werden.

Die Aussagen über den Einfluß von Phenytoin auf den zentralen GABA-Gehalt sind widersprüchlich. So berichten Herz

(1970) und Meldrum et al. (1977) im Rahmen ihrer Übersichtsartikel davon, daß Phenytoin die GABA-Konzentration in Rattenhirnen erhöht. Ein solcher Anstieg von zentralem GABA könnte zu einem antikonvulsiven Effekt führen. Löscher (1975) zitiert jedoch mehrere Arbeiten, die besagen, daß Phenytoin in antikonvulsiv wirksamen Dosen den zentralen GABA-Gehalt nicht beeinflusst. Es gibt einige Hinweise, daß Phenytoin die postsynaptische Inhibition durch GABA verstärkt (Woodbury, 1980). Aber auch hier treten Widersprüchlichkeiten auf, so daß noch weitere Arbeiten notwendig erscheinen, um beurteilen zu können, ob ein Einfluß an GABA-Rezeptoren oder GABA-ähnliche Aktivitäten zur antikonvulsiven Wirkung von Phenytoin beitragen.

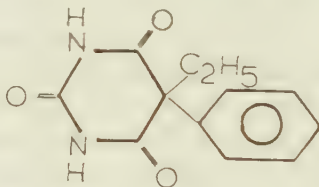
Die zerebrale Glutamat-Konzentration (Glutamat = excitatorischer Neurotransmitter des ZNS) wird durch Phenytoin und Phenobarbital herabgesetzt. Vor allem Phenytoin beschleunigt die Umsetzung von Glutamat zu α -Ketoglutarat. Der Transport von Glutamat ist eng gekoppelt an Na^+ - und K^+ -Bewegungen, so daß der primäre Schritt auf ionaler Basis beim Kationen-Transport liegen könnte (Meldrum et al., 1977).

Auf eine Bedeutung von Ach bei der Entstehung bzw. Verhinderung von Krämpfen weisen ebenfalls eine Reihe von Studien hin, wobei die excitatorische Wirkung von Ach auf zentrale, muscarinartige Rezeptoren im Vordergrund zu stehen scheint (Löscher, 1980). Hemmstoffe des Ach-Abbaus induzieren Krämpfe. Diese können durch den Ach-Antagonisten Atropin gehemmt werden. Nach der Applikation der Krampfgifte Pentetrazol und Strychnin kommt es zu einer vermehrten Freisetzung von Ach aus dem Gehirngewebe, was aber nicht die Ursache, sondern die Folge des Krampfgeschehens sein soll (Herz, 1970).

McLennan und Elliot (1951) berichteten, daß kleine Dosen von Phenytoin die Ach-Synthese in Gehirnschnitten anregten. Die Beobachtung könnte einige zentral erregende Wirkungen erklären. Bianchi et al. (1975) kamen zu dem Resultat, daß

Phenytoin keinen Einfluß auf den Ach-Spiegel und dessen Freisetzung vom cerebralen Cortex normaler Meerschweinchen besitzt. Bei Meerschweinchen mit epileptischen Anfällen jedoch unterdrückt Phenytoin die Krämpfe und reduziert die abnorm hohe cortikale Ach-Abgabe. Das läßt einen indirekten Einfluß auf die präsynaptische Ach-Freisetzung vermuten.

2.2.2 Phenobarbital



Zu Anfang dieses Jahrhunderts wurden die Barbiturate als Schlafmittel eingeführt. Ihre antikonvulsive Potenz wurde zufällig entdeckt.

Hauptmann (1912) berichtete, daß ein epileptischer Patient weniger Anfälle erlitt, seit er Phenobarbital zur Sedation verabreicht bekommen hatte. Andere Kliniker bestätigten Hauptmanns Beobachtung bald und anerkannten den therapeutischen Nutzen von Phenobarbital, da es wirksamer als die Bromide und andere damals gebräuchliche Antiepileptica war. Seine Überlegenheit bestand vor allem in seiner Selektivität; d.h. die ausgeprägten antikonvulsiven Eigenschaften waren nur mit einer geringen Sedation als Nebenwirkung behaftet. Das war und ist noch heute das vorherrschende Ziel in der Therapie der Epilepsie: Anfallsfreiheit ohne Beeinträchtigung anderer, notwendiger Lebensfunktionen. Gerade die Selektivität von Phenobarbital beflügelte die Untersuchung und Forschung nach seinen Wirkungsmechanismen und Hauptangriffsstellen, da man hoffte, daraus Schlüsse auf die Pathophysiologie der Epilepsie ziehen zu können. Nur wenige von hunderten bekannten Bar-

bituraten wiesen eine solch selektive antikonvulsive Wirksamkeit auf (Prichard, 1980).

Phenobarbital ist ein wirksames Mittel gegen generalisierte, tonisch-klonische und cortikale, focale Anfälle. Seine Effizienz, die geringe Toxizität und der Kostenvorteil machen es zu einem Mittel der Wahl bei diesen Epilepsietypen, besonders bei Kindern (Rall und Schleifer, 1981). Abruptes Absetzen der Barbiturat-Therapie kann einen Status epilepticus auslösen. Unter Barbiturat-Anwendung können gehäuft psychomotorische oder Petit mal-Anfälle auftreten, was eine Kombination mit anderen Antikonvulsiva notwendig machen kann (Jurna, 1977).

Barbiturate unterdrücken reversibel die Aktivität aller erregbaren Gewebe. Das ZNS ist besonders empfänglich. Mit den lipophilen Barbituraten können alle Stadien zentraler Depression von milder Sedation bis hin zu tiefer Narkose erzeugt werden. Vor allem 5-Phenyl-Substituenten entfalten antikonvulsive Qualitäten. Durch die Dämpfung der Erregbarkeit von Neuronenmembranen beseitigen Barbiturate die Auswirkungen einer räumlichen und zeitlichen Bahnung. Jurna (1977) beschreibt den allgemeinen Wirkungsmechanismus so: "Die synaptische Erregungsübertragung wird durch Barbiturate gehemmt 1) indirekt durch die Abnahme des Einstroms aktivierender (bahnender) Impulse aus Aktivierungssystemen und 2) direkt durch den Angriff am präsynaptischen Teil neuro-neuraler Kontaktstellen. Der postsynaptische Teil von Synapsen ist erst im Bereich hoher Dosen (Narkose, Schlafmittelvergiftung) betroffen." Anders formuliert: Die hemmende Wirkung der Barbiturate ist besonders auffällig bei repetitiver neuronaler Entladung. Kleine Dosierungen zeigen manchmal keinen Effekt auf den ersten Impuls einer Impulsserie, während die folgenden Impulse zum großen Teil beeinträchtigt werden. Der präsynaptische Einfluß resultiert wahrscheinlich in einer Abnahme der Transmitterfreisetzung (Rall und Schleifer, 1981).

In Tierversuchen hob Phenobarbital mit Dosierungen, die

noch kein neurologisches Defizit erkennen ließen, die tonische Streckkomponente der MES-Krämpfe auf. Es erhöhte im bemerkenswerten Gegensatz zu Phenytoin die Krampfschwelle für Elektroschocks von niedriger Intensität und Pentetrazol. Phenobarbital ist auch wirksam in weniger häufig untersuchten Tiermodellen für Epilepsie. Z.B. schützte es genetisch empfängliche Paviane vor Anfällen, die durch Lichtreize ausgelöst werden.

Phenobarbital und Mephobarbital schützten, wie oben schon erwähnt, effektiver gegenüber minimalen Elektroschock- und Pentetrazol-Krämpfen als Phenytoin. Das bedeutet, daß Barbiturate Eigenschaften besitzen müssen, die Phenytoin nicht aufzuweisen hat (Prichard, 1980). Interessant erscheint in diesem Zusammenhang eine Arbeit von Aston und Domino (1961). Sie untersuchten die Veränderung der Reizschwelle für Nachentladungen von corticalen (motorischen) und retikulären Gehirnformationen durch Pentobarbital, Phenobarbital und Phenytoin. Während Pentobarbital die Reizschwelle beider Gehirnareale gleichmäßig anhub, steigerte Phenobarbital die cortikale Reizschwelle mehr als die retikuläre und Phenytoin ausschließlich die cortikale. Das Ergebnis scheint gut mit den antiepileptischen und hypnotischen Qualitäten der drei Stoffe übereinzustimmen. Bewußtseinsstrübung, Anheben der elektrischen wie chemischen Krampfschwelle und das Hervorrufen schneller EEG-Aktivitäten, alles was Phenobarbital von Phenytoin unterscheidet, könnte durch den Angriff auf das Retikularsystem erklärt werden.

Untersuchungen an Kaninchen mit vereisten Cortex-Arealen erbrachten weitere Hinweise auf die möglichen unterschiedlichen Wirkungsstellen von Phenobarbital und Phenytoin. Phenobarbital verhinderte die Ausbreitung abnormaler Aktivität vom epileptogenen Focus zum Cortex und Diencephalon. Weiterhin unterdrückte es die Aktivität des Focus selbst. Phenytoin verhinderte effektiver die cortikale Ausbreitung, hatte aber keinen Einfluß auf den konvulsiven Anfallsherd

oder auf das Übergreifen der Erregung auf das Diencephalon. Das läßt vermuten, daß Phenobarbital einen wichtigen Anteil seines antiepileptischen Effekts über die Regulierung der Aktivität abnormaler Neuronen ausübt, während Phenytoin primär wohl normale Neuronen beeinflusst (Pritchard, 1980).

Es existieren bisher nur wenige Aussagen über die Wechselwirkungen zwischen Barbituraten und zentralen Neurotransmittern. Meyer und Frey (1973) ziehen aus ihren Untersuchungen den Schluß, daß der antikonvulsive Effekt von Phenobarbital im Elektrokrampf klar abhängig von 5-HT und NA ist. Beim Pentetrazolkrampf zeigte 5-HT den eindeutigsten Effekt auf die Wirksamkeit von Phenobarbital. Meldrum et al. (1977) beobachteten nach Phenobarbital einen zentralen 5-HT-Anstieg und einen verminderten Umsatz. Ebenso wird der Umsatz der Catecholamine Noradrenalin und Dopamin durch Barbiturate gehemmt (Harvey, 1981).

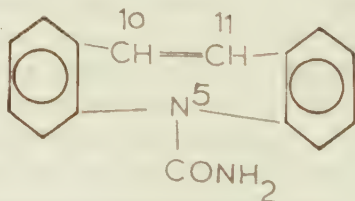
Einige Autoren postulierten, daß Barbiturate in kleinen Dosen GABA-ähnlich wirken (z.B. Polc und Haefely, 1976) oder daß sie die GABA-Wirkung verstärken (Nicolli, 1978). So verlängert eine experimentelle Anhebung des GABA-Gehalts den Barbituratschlaf, eine Reduzierung verkürzt die Schlafzeit. Der Mechanismus der GABA-ähnlichen Wirkungen ist noch unklar. Die Aussagen über eine Beeinflussung des zentralen GABA-Gehalts sind widersprüchlich. So existieren Arbeiten, die nach Barbituraten einen GABA-Anstieg feststellten, während andere keine Beeinflussung des zentralen GABA-Gehalts sahen (Löscher, 1975; Meldrum et al., 1977). Der beobachtete Anstieg ist sehr gering, und der antikonvulsive Effekt kann auch in Abwesenheit einer erhöhten GABA-Konzentration registriert werden (Meldrum et al., 1977).

Eine elektrophysiologische Studie an Kulturen von Rückenmarksnervenzellen zeigte, daß hypnotische Barbiturate GABA-ähnliche Wirkungen entfalten und die postsynaptische Hemmung durch GABA verstärken. Vor allem antikonvulsive Bar-

biturate dagegen besaßen keinen GABA-ähnlichen Effekt bei Konzentrationen, die die postsynaptische Inhibition potenzierten (MacDonald und Barker, 1978). Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß die krampfhemmende Fähigkeit der antiepileptischen Barbiturate in der Potenzierung der Aktivität inhibitorischer Nervenwege, die bei der Entladung epileptogener Foci rekrutiert werden, zu suchen ist. Sedation auf der anderen Seite könnte die Folge einer mehr generellen Stimulation von GABA-Rezeptoren sein (Rall und Schleifer, 1981).

Bianchi et al. (1975) berichten, daß Phenobarbital die Erhöhung der cortikalen Ach-Freisetzung durch Konvulsiva antagonisiert. Narkotische Dosen von Pentobarbital vermindern die Freisetzung und den Umsatz von Ach (Kalant und Grose, 1967; Richter und Waller, 1977). Dagegen schreibt Prichard (1980), daß Phenobarbital die Produktion von freiem Ach in Gehirnschnitten stimulieren kann.

2.2.3 Carbamazepin



Carbamazepin wurde in den fünfziger Jahren von der Geigy AG in Basel entwickelt. Theobald und Kunz beschrieben 1963 seine antikonvulsiven Eigenschaften im Tierversuch, während Bonduelle 1964 die Ergebnisse der ersten klinischen Tests veröffentlichte. Mitte der sechziger Jahre konnte Carbamazepin in Europa auf dem Arzneimittelmarkt als Antiepilepticum eingeführt werden. In Amerika erschien Carbamazepin erst 1974 in diesen Anwendungsbereich auf dem Markt. Es war aber schon seit 1966 in den USA als ein Mittel gegen Trigeminusneuralgien zugelassen.

Carbamazepin weist strukturelle Verwandtschaft mit den trizyklischen Antidepressive wie z.B. Imipramin auf. Es ist ein Iminostilbenabkömmling mit einer Carbamyl-Gruppe in der Position 5. Diese Gruppierung scheint wichtig für seine antikonvulsiven Eigenschaften zu sein. Das pharmakologische Bild von Carbamazepin ähnelt dem von Phenytoin.

Carbamazepin ist indiziert bei großen, generalisierten Krämpfen und bei Epilepsien, die mit psychomotorischen Anfällen einhergehen. Wegen seiner nur milden Sedation und der Seltenheit gravierender Nebenwirkungen wird es als eines der wichtigsten Antiepileptica bei Kindern und Erwachsenen angesehen (Jurna, 1977; Riemann, 1976; Rall und Schleifer, 1981; Suria und Killam 1980).

Die antikonvulsiven Effekte von Carbamazepin bei Versuchstieren gleichen denen von Phenytoin und Phenobarbital nur teilweise. In therapeutischen Konzentrationen unterdrückt Carbamazepin MES-Krämpfe. Es verhindert focale Gehirnentladungen, die durch cortikale Penicillin-Implantationen verursacht werden, und es schützt vor Anfällen, die auf Einpflanzung von Aluminiumpaste in den Cortex zurückzuführen sind.

Carbamazepin schützt effektiver als Phenytoin vor Krämpfen, die durch minimale Elektroschocks oder durch Pentetrazol ausgelöst werden. Die posttetanische Potenzierung wird durch therapeutische Konzentrationen von Carbamazepin nur leicht abgeschwächt (Rall und Schleifer, 1981).

Zum Wirkungsmechanismus von Carbamazepin können noch keine definitiven Aussagen gemacht werden. Es gibt allenfalls Hinweise und Spekulationen.

Experimente mit isolierten Nerven zeigen, daß Carbamazepin die Reizschwelle zur Auslösung eines Aktionspotentials anheben und in hohen Konzentrationen Aktionspotentiale ganz unterdrücken kann. Dies hängt eventuell mit der Fähigkeit zusammen, die Na^+ -Konduktivität an reizbaren Membranen herabzusetzen. Möglicherweise ist der wichtigste antikonvulsive Wirkungsmechanismus von Carbamazepin in einer allge-

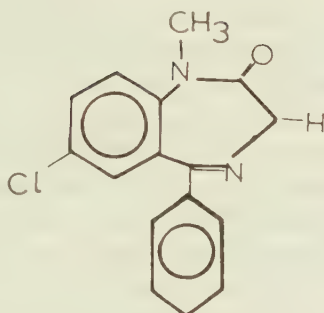
meinen Reduzierung der Nervenerregbarkeit zu suchen (Suria und Killam, 1980).

Aufgrund seiner Strukturähnlichkeit zu Imipramin, einem Antidepressivum mit antikonvulsiver Wirkungskomponente bei Mensch und Tier, wurde besonders der Einfluß auf die zentralen Catecholamine untersucht, da sich die antiepileptischen Effekte von Imipramin am einfachsten mit der für diese Substanz postulierten Hemmung der Rückspeicherung der Amine und daher erhöhter Aminkonzentration im Rezeptorbereich erklären lassen. Carbamazepin senkt gleichfalls die Wiederaufnahmerate von NA, reduziert aber auch dessen Freisetzung aus Gehirnsynaptosomen (Purdy s. Suria und Killam, 1980). Die in diesem Versuch verwendete Carbamazepin-Konzentration ist relativ hoch, so daß der Autor eine Beteiligung von NA am antikonvulsiven Wirkmechanismus in Frage stellt. Carbamazepin erniedrigt bei mit 6-Hydroxydopamin vorbehandelten Ratten die Krampfschwelle für Elektroschocks. Solche Ratten weisen im Vergleich mit unbehandelten Ratten einen geringeren NA-Spiegel im Gehirn auf. Das läßt vermuten, daß Catecholamine doch eine Rolle in der Vermittlung der antiepileptischen Wirkung von Carbamazepin spielen.

Carbamazepin induziert eine Steigerung des striatalen Ach-Gehalts und eine selektive, ausgeprägte Abnahme der Cholin-konzentration im Rattengehirn. Inwiefern diese Beobachtung für den antikonvulsiven Effekt interessant sein könnte, ist noch nicht näher untersucht worden.

Versuche über eine Beeinflussung GABA-erger und glycin-erger Mechanismen durch Carbamazepin ergaben noch keine Hinweise, die die antikonvulsiven Wirkungen dieser Substanz erklären könnten (Suria und Killam, 1980).

2.2.4 Diazepam



Diazepam gehört in die Reihe der Benzodiazepine, die zuerst als Psychotherapeutica klinische Bedeutung erlangten. Seit Sternbach 1933 die ersten solcher Verbindungen synthetisierte, sind mehr als 2.000 nachgefolgt, von denen eine große Anzahl antiepileptische Potenz besitzt. Davon haben sich hauptsächlich Clonazepam bei der chronischen Behandlung bestimmter Epilepsieformen und Diazepam für den akuten Einsatz beim Status epilepticus im therapeutischen Gebrauch durchgesetzt. Weitere Indikationen weist Diazepam als Sedativum, Anxiolyticum und zentrales Muskelrelaxans auf.

Die antikonvulsive Wirkung der Benzodiazepine wurde anhand einer Reihe verschiedener Krampfmodelle untersucht. Diazepam war am wirksamsten gegenüber Modellen einer primär generalisierten Epilepsie. Bei Mäusen schützte es effektiver vor Pentetrazolkrämpfen (Modell für Petit mal-Epilepsien) als vor dem maximalen Elektroschock (Modell für Grand mal-Epilepsien). Einen guten Schutz bot Diazepam vor Picrotoxin und Strychnin, zwei chemischen Krampfgiften. Weitere Studien an experimentellen Epilepsiemodellen ergaben, daß Benzodiazepine die Ausbreitung des Anfallgeschehens vom epileptogenen Focus im Cortex, Thalamus und limbischen System unterdrücken, ohne die abnormen Entladungen des Anfallherdes zu beeinflussen. In kleinen Dosen hemmen sie polysynaptische spinale Reflexe und vermindern die neuronale Aktivität des retikulären Systems im Mesencephalon (Rall und Schleifer, 1981; Killam und Suria, 1980).

Für die Erklärung des Wirkungsmechanismus der Benzodiazepine auf molekularer Basis wurde fast jeder mögliche Neurotransmitter des ZNS in die Überlegungen miteinbezogen.

Zahlreiche Untersuchungen befassen sich mit der Rolle der zentralen biogenen Amine (Dopamin, Noradrenalin, 5-Hydroxytryptamin) für die Krampfempfindlichkeit. Ein Großteil der Arbeiten deutet darauf hin, daß die drei Amine inhibitorisch auf die Krampferregbarkeit wirken (Löscher, 1980). Benzodiazepine nun können den Umsatz von DA, NA und 5-HT im Gehirn senken. Neben der Umsatzreduzierung wirken die Benzodiazepine der Stoffwechselzunahme von NA unter Streßeinwirkung entgegen (Killam und Suria, 1980). Hohe Dosen von Benzodiazepinen erhöhen den cerebralen Gehalt an 5-HT (Meldrum et al., 1977). Der verminderte Catecholaminsatz wurde zuerst über eine Abnahme des Impulsflusses in dopaminergen und noradrenergen Axonen erklärt. Danach betrachtete man die Auswirkungen auf die Amine als sekundären Effekt, da heute Wechselwirkungen der Benzodiazepine mit dem GABA-ergen Transmittersystem als Hauptmechanismus für die antikonvulsive Aktivität angenommen werden. So konnte der durch Diazepam reduzierte Umsatz von DA im Nucleus caudatus mit Bicucullin, einem spezifischen GABA-Rezeptorblocker, aufgehoben werden. Zur Zeit nimmt man an, daß die nach Gabe von Benzodiazepinen verminderte Umsatzgeschwindigkeit der biogenen zentralen Amine nicht in Beziehung zu deren antikonvulsiven Wirkung steht (Killam und Suria, 1980; Löscher, 1980).

Glycin ist ein inhibitorischer Transmitter im Hirnstamm und Rückenmark. Das Konvulsivum Strychnin und verwandte Alkaloide hemmen dessen postsynaptische Wirkungen. Dieser Effekt scheint speziell für die spinalen Anfälle verantwortlich zu sein, die durch Strychnin ausgelöst werden. In vitro-Untersuchungen ließen vermuten, daß Benzodiazepine Glycin-ähnliche Wirkungen haben. Sie verhinderten, daß markiertes Strychnin von Hirnhomogenaten gebunden wurde.

Dabei war die unterschiedliche Affinität der Benzodiazepine zum Glycin-Rezeptor korreliert mit ihrer antikonvulsiven Effektivität. Elektrophysiologische Untersuchungen jedoch unterstützen nicht die Ansicht, daß Glycin-agonistische Aktivitäten am Wirkungsmechanismus der Benzodiazepine beteiligt sind (Meldrum et al., 1977; Löscher, 1980).

Die aktuellen Erkenntnisse sehen in einem Einfluß auf das GABA-System den Hauptangriffspunkt der Benzodiazepine.

1/10 der Dosis von Diazepam, die nötig ist, um Strychninkrämpfe zu unterdrücken, genügt zur Hemmung von Bicucullin- und Picrotoxinanfällen. Ebenso wirkt Diazepam effektiver gegenüber Hydrazid-Krämpfen als gegenüber Pentylenetetrazol- oder Strychnin-Krämpfen. An einem sympathischen Ganglion des Ochsenfrosches konnten Suria und Costa (1975) zeigen, daß Diazepam die posttetanische Potenzierung erregender Potentiale in einer dosisabhängigen und reproduzierbaren Weise reduziert. Dabei induziert Diazepam wie GABA eine Depolarisierung präsynaptischer Nervenendigungen. Diese Aktion ist durch Picrotoxin zu antagonisieren. Die Autoren vermuten, daß durch die Depolarisation der Nervenendigungen die Transmitterabgabe verändert wird und dadurch indirekt postsynaptisch die posttetanische Potenzierung (PTP) verhindert wird. (Die PTP soll in der Ausbreitung der Krampfpotentiale eine gewisse Rolle spielen.)

Diese Effekte könnten unter Umständen auf eine Hemmung der Wiederaufnahme von GABA und damit einer verlängerten Wirkung von GABA zurückgeführt werden. Interessant erscheint hier aber eine Beobachtung, daß Benzodiazepine einen endogenen Inhibitor vom postsynaptischen GABA-Rezeptor verdrängen und damit die Affinität des Rezeptors für GABA erhöhen. Es ist zu vermuten, daß eine enge Beziehung zwischen dem erst seit kurzem bekannten Benzodiazepin-Rezeptor und dem GABA-Rezeptor besteht (Killam und Suria, 1980; Löscher, 1980).

Benzodiazepine antagonisieren den letalen Effekt verschiedener Cholinesterasehemmer und unterdrücken Pentylenetetrazol-

Krämpfe. Diazepam erhöht den Ach-Gehalt in Synaptosomen der Hirnrinde, ohne die CholinKonzentration zu verändern. Es wird deshalb vermutet, daß die vermehrte Ach-Konzentration der Synaptosomen auf einer Blockade der Ach-Abgabe von Nervenendigungen beruht. Die Beobachtung, daß Muscimol, ein GABA-Agonist, einen bevorzugten Einfluß auf den Ach-Stoffwechsel in der Gehirnrinde und im Mittelhirn besitzt, stellt eine direkte Wirkung der Benzodiazepine wiederum in Frage. Ein weiterer Aspekt, der gegen die Annahme spricht, daß Benzodiazepine möglicherweise ihre antikonvulsive Wirkung über zentrale cholinerge Synapsen entfalten, ist die Differenz im Zeitverlauf der antiepileptischen Wirkung und des Einflusses auf den zentralen Ach-Gehalt. Der antiepileptische Effekt hält bei Mäusen rund 20 Stunden an, während die Auswirkungen auf den Ach-Gehalt nur 2 Stunden andauern. Es scheint wahrscheinlich, daß GABA-erge Mechanismen zwischengeschaltet sind (Killam und Suria, 1980).

2.2.5 Valproinsäure

1963 beschrieben Meunier et al. als erste die pharmakodynamischen Eigenschaften der Valproinsäure (VPA), einer Verbindung, die ganz anders strukturiert war als alle bisher bekannten Antiepileptica:



Die antikonvulsiven Potenzen dieser einfachen Substanz wurden entdeckt, als eine Serie von Khellin-Derivaten auf ihre pharmakologischen Eigenheiten hin untersucht werden sollte. Aufgrund der Wasserunlöslichkeit der Khelline wurde nach einem geeigneten Lösungsvermittler gesucht. Man wählte schließlich Valproinsäure aus.

Die in Valproinsäure gelösten Khelline erwiesen sich in Versuchen als potente Antikonvulsiva. Die Lösung schützte vor Pentetrazol-Krämpfen. Da andere ebenfalls in Valproinsäure gelöste Verbindungen denselben Effekt zeigten, schrieb man die antikonvulsiven Qualitäten der Lösungen dem Lösungsvermittler zu. Das konnte dann in einer Vielzahl folgender Untersuchungen bestätigt werden (Kupferberg, 1980).

Valproinsäure besitzt antiepileptische Eigenschaften gegenüber einer Reihe von Anfallstypen, während sie nur minimale Sedation und andere zentralnervöse Nebenwirkungen entwickelt. Sie ist wirksam gegen Pentetrazol-Krämpfe in einer größeren Effektivität als Ethosuximid, geringer jedoch als Phenobarbital. Valproinsäure hemmt Streckkrämpfe der Hinterextremitäten bei Mäusen nach Elektroschocks. Dazu werden relativ hohe Dosen benötigt. Man vermutete deshalb, daß Valproinsäure wertvoller sein würde in der Behandlung von Absencen als von generalisierten, tonisch-klonischen Anfällen. Es erwies sich auch als wirksam bei anderen Petit mal-Modellen, reduzierte aber gleichfalls die Frequenz und Schwere spontaner Anfälle von Affen, die epileptische Krämpfe erlitten, nachdem ihnen Aluminium-Paste in den Cortex implantiert worden war. Darüber hinaus kann Valproinsäure provozierte Anfälle bei Kindling-Ratten verhindern. Es potenziert die Wirkung von Phenytoin bei MES-Krämpfen (MES = maximaler Elektroschock). Valproinsäure erhöht die antikonvulsiven Eigenschaften von Phenobarbital ohne eine Steigerung von dessen hypnotischer Aktivität (Rall und Schleifer, 1981; Kupferberg, 1980). Nach unkontrollierten Studien ist Valproinsäure als ein sehr wirksames Medikament zur Behandlung von Absencen anzusehen. Es kann aber auch effektiv vor Myoklonien und Grand mal-Anfällen schützen (Rall und Schleifer, 1981). Zur Erklärung des Wirkungsmechanismus von Valproinsäure wird zumeist auf die Wechselwirkungen mit dem GABA-Metabolismus im Gehirn verwiesen. Über Eingriffe in andere

Transmittersysteme des ZNS ist wenig bekannt.

Der 5-HT-Umsatz kann durch Valproinsäure gesteigert werden (Löscher, 1980). Meldrum et al. (1977) berichten von einem erhöhten 5-HT-Gehalt des Gehirns nach Valproinsäure-Applikation. Sie meinen, daß die Steigerung des zentralen 5-HT eher auf einen gestörten Abtransport als auf den erhöhten Stoffwechsel von 5-HT zurückzuführen ist.

Die cortikale Freisetzung von Ach wird durch Valproinsäure gesenkt (Löscher, 1980).

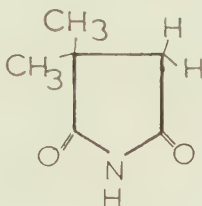
Im Vordergrund steht jedoch die Fähigkeit von Valproinsäure, den zentralen GABA-Gehalt zu steigern. 400 mg/kg i.p. erhöhten die GABA-Konzentration im ZNS um 60% innerhalb einer Stunde, ohne die Aspartat-, Glutamat- und Glycin-Konzentrationen zu verändern. Der Anstieg von GABA korreliert gut mit dem Beginn und der Dauer der antikonvulsiven Aktivität von Valproinsäure (Kupferberg, 1980). Die Erhöhung der zentralen GABA-Konzentration ist für Valproinsäure gesichert. Dieser Effekt scheint sehr spezifisch auf GABA-erge Nervenendigungen begrenzt zu sein, jedoch ist der zugrundeliegende Mechanismus noch nicht ausreichend geklärt (Löscher, 1980).

Es wird von Aktivitätsänderungen der Enzyme berichtet, die für die Produktion und den Abbau dieses inhibitorischen Transmitters nötig sind. So hemmt Valproinsäure die GABA-Aminotransferase (GABA-T), ein Enzym, das den Abbau von GABA katalysiert. Parallel zum GABA-Konzentrationsanstieg wird die Glutamatdecarboxylase (GAD), die die GABA-Synthese bewirkt, aktiviert (Kupferberg, 1980). Dessen ungeachtet ist die antiepileptische Wirkung von Valproinsäure auch in Abwesenheit signifikant gesteigerter GABA-Konzentrationen zu beobachten (Meldrum et al., 1977). Die Konzentrationen, die in Experimenten verwendet wurden, sind dazu vielfach höher als die therapeutischen Dosen beim Menschen.

Neben diesen Effekten von Valproinsäure auf den zentralen GABA-Stoffwechsel wird eine direkte postsynaptische Wirkung des Antiepilepticums beschrieben, die zu einer Ver-

stärkung der GABA-ergen Inhibition führt (Kerwin und Tamberner, 1981).

2.2.3 Ethosuximid



Die Entdeckung der Suxinimide als Antikonvulsiva ist auf eine systematische Suche nach effektiven Substanzen in der Behandlung von Petit mal-Epilepsien zurückzuführen, die weniger toxisch waren als die Oxazolidindione (z.B. Trimethadion) (Rall und Schleifer, 1981).

Anfang der fünfziger Jahre wurden die ersten Suxinimid-Derivate mit antiepileptischer Wirkungskomponente synthetisiert und getestet. Drei dieser Verbindungen - Ethosuximid, Methsuximid und Phensuximid - kamen als klassische Petit mal-Mittel in den klinischen Gebrauch (Ferendelli und Kupferberg, 1980).

Wie die Oxazolidindione besitzt Ethosuximid die Nebenwirkung, Grand mal-Anfälle auslösen zu können. Deshalb sollten die Suxinimide nur in Kombination mit einem gegen Grand mal wirksamen Mittel verabreicht werden (Riemann, 1976).

Die antiepileptische Effizienz der Suxinimide drückt sich aus in einem sehr guten Schutz vor Pentetrazol-Krämpfen. Werden die ED₅₀-Werte dieser Versuche herangezogen, wirken Meth- und Phensuximid potenter als Ethosuximid; jedoch entwickeln sie, wenn man Dosierungen wählt, die völlige Anfallsfreiheit garantieren, neurotoxische Nebenwirkungen bei Nagern.

Ethosuximid fehlt fast völlig eine Anti-MES-Aktivität. Erst

mit hohen toxischen Dosierungen gelingt es, den tonischen Streckkrampfanteil zu unterdrücken. Die aromatisch substituierten Suxinimide Meth- und Phensuximid dagegen sind wirksam gegen MES-Anfälle. Die ED_{50} -Werte hier sind ähnlich denen im Pentetrazol-Versuch.

Die Wirkung von Ethosuximid ist weiter in anderen experimentellen Epilepsiemodellen getestet worden. So unterdrückt Ethosuximid elektrische Entladungen in primären und sekundären Anfallsherden mit den dazugehörigen klonischen Krämpfen, die durch Kobalt-Implantation in den frontalen Cortex von Ratten verursacht werden. Versuchstiere, die von einer chronischen Barbiturat-Behandlung abgesetzt werden, zeigen erhöhte Empfindlichkeit gegenüber audiogenen Anfällen. Ethosuximid verringert diese Empfindlichkeit. Ethosuximid reduziert epileptische Entladungen in EEGs von Katzen mit akuter Penicillinepilepsie. Dabei korrelierten die Plasmakonzentrationen und der antiepileptische Effekt von Ethosuximid gut miteinander, und die Plasmakonzentrationen ähnelten denen bei Patienten mit Absencen (Rall und Schleifer, 1981; Ferendelli und Kupferberg, 1980).

Obwohl diese Stoffe nun 20 Jahre angewendet werden, ist im Vergleich zu anderen Antiepileptica viel weniger von ihren Wirkungsmechanismen bekannt. Über den Eingriff von Ethosuximid in Neurotransmittersysteme kann fast nichts gesagt werden.

In einer Untersuchung über die Bedeutung der drei biogenen Amine DA, NA und 5-HT für die antikonvulsiven Wirkungen von Phenobarbital, Phenytoin und Ethosuximid in den zwei klassischen Krampfmodellen (Pentetrazol- und MES-Krampf), schien für Ethosuximid neben 5-HT auch NA eine Rolle zu spielen (Meyer und Frey, 1973). Außer Valproinsäure, Diazepam und Trimethadion konnte Ethosuximid die durch Isoniazid bewirkte Hemmung der GABA- und GAD-Aktivität antagonisieren (Löscher, 1980). Der GABA-Spiegel im Gehirn wird durch Ethosuximid nicht angehoben (Ferlandelli, 1980).

2.3 Antiepileptica am Darm

2.3.1 Phenytoin

Druckman und Moore (1955) studierten als eine der ersten die Wirkung von Phenytoin am isolierten Darm. Am Kaninchendünndarm reduzierten 5 µg/ml die Amplitude der Spontankontraktionen. 80 µg/ml Phenytoin unterdrückten die Muskelaktivität ganz. Die Autoren wiesen gleichzeitig nach, daß nicht die starke Alkalität der Phenytoin-Lösung ausschlaggebend für ihre Ergebnisse war.

Vanasin et al. (1973) untersuchten die Wirkung von Phenytoin an isolierten Colonstücken vom Mensch und Hund. Es verlängerte signifikant die Relaxationsphase und verkürzte die Kontraktionsdauer elektrisch stimulierter Därme. 5-HT- und Ach-Kontraktionen wie auch Spontankontraktionen wurden ebenfalls gehemmt. α - und β -Rezeptorenblockade und eine Hemmung der ganglionären Transmission mit Hexamethonium beeinträchtigten die Wirkung von Phenytoin nicht. Vanasin vermutete aufgrund der Ergebnisse, daß Phenytoin sowohl direkt an der glatten Muskulatur als auch an neuromuskulären Synapsen angreift.

Beide Arbeiten bringen die Fähigkeit zur Hemmung der intestinalen Muskulatur in Verbindung mit dem therapeutischen Nutzen bei der Behandlung intestinaler Hypermotilität und des spastischen Colonsyndroms.

Woodbury und Kemp (1970) berichten von Untersuchungen, die Woodbury zusammen mit van Rees und Noach in Leiden durchführte. Die Versuche am isolierten Rattenileum zeigten, daß Phenytoin in kleinen Konzentrationen (0.3 µg/ml) die Ach-Freisetzung aus parasympathischen Nervenendigungen und intramuralen Ganglien anregte. Die Kontraktionen konnten durch Atropin geblockt und durch Physostigmin potenziert werden.

Höhere Konzentrationen (ab 1 µg/ml) hemmen zunehmend Muskelzuckungen, die durch exogenes Ach induziert werden (Gayet-Hallion, 1944; Woodbury und Kemp, 1970). Die Reiz-

antwort auf Ach konnte in den Versuchen von Woodbury vollständig mit 100 µg/ml antagonisiert werden. Eine Analyse der Dosis-Wirkungskurve erbrachte einen nicht-kompetitiven Antagonismus von Phenytoin gegenüber Ach. Aufgrund seiner Wirksamkeit bei Ach-Konzentrationen nimmt Woodbury an, daß die Hemmung durch hohe Konzentrationen von Phenytoin auf eine direkte Aktion an der Muskulatur zurückzuführen ist. Um diese Aussage uneingeschränkt aufrechtzuerhalten, sind weitere Untersuchungen notwendig, die den relaxierenden Effekt von Phenytoin auch gegenüber anderen erregenden Substanzen, wie z.B. Histamin, Bradykinin, 5-HT, Nicotin und gegenüber elektrischer Reizung von Darmpräparaten zum Gegenstand haben.

30 µg/ml genügten, um Barium-induzierte Kontraktionen vollkommen zu unterdrücken. Barium soll die glatte Muskulatur direkt entweder durch ein Eingreifen in die elektromechanische Kopplung oder in den kontraktilen Prozeß selbst kontrahieren, indem es als Ca^{++} -Ersatz fungiert. Unter dieser Voraussetzung folgerten Woodbury und Kemp (1970), daß die Wirkung von Phenytoin am Darm durch eine Veränderung des Ca^{++} -Metabolismus bedingt sein könnte.

In diese Richtung weist auch die Arbeit von Ferrari und Furlanut (1973). Sie bestätigt die Beobachtung von Druckman und Moore (1955), daß Phenytoin eine starke myolytische Aktivität am Darm entfaltet. Die ED_{50} -Werte gegenüber Ach- und Ba^{++} -induzierten Kontraktionen lagen beim Meerschweinchenileum im vergleichbaren Bereich (Ach: $4.5 \times 10^{-6} \text{ M} = 1.3 \text{ µg/ml}$, Ba^{++} : $7 \times 10^{-6} \text{ M} = 1.9 \text{ µg/ml}$). Weiter berichteten Ferrari und Furlanut von einem gegenseitigen kompetitiven Antagonismus zwischen Ca^{++} -Ionen und Phenytoin an K^{+} -depolarisierten Taenia coli-Präparaten, wie sie es zuvor schon bei Stoffen mit Papaverin-ähnlicher Wirkung beobachtet hatten. Deshalb nehmen sie eine direkte Wechselbeziehung von Phenytoin mit der essentiellen Funktion von Ca^{++} in der elektromechanischen Kopplung an. Andererseits reduzierte Phenytoin die spontane und die durch Ach oder KCl hervor-

gerufene, elektrische und mechanische Aktivität der intestinalen Muskulatur. Diese Wirkung war Ca^{++} -unempfindlich und könnte nach Meinung der Autoren durchaus zur myolytischen Aktion von Phenytoin an polarisierten Präparaten beitragen.

2.3.2 Phenobarbital und andere Barbiturate

Redonnet (1925) teilte als einer der ersten mit, daß Barbiturate den Tonus der gastrointestinalen Muskulatur und die Amplitude rhythmischer Kontraktionen herabsetzen. Gruber (1927) erzielte ähnliche Ergebnisse an isolierten Katzen-, Ratten- und Kaninchendünndärmen. Eine 0.1% Phenobarbital-Lösung z.B. erniedrigte den Tonus aller Präparate merklich. Druckman und Moore (1955) bestätigten die Ergebnisse. Sie untersuchten unter anderem die Wirkung von Phenobarbital auf die Spontankontraktionen des Kaninchendünndarms. Bei 100 $\mu\text{g/ml}$ nahmen die Frequenz und die Höhe der Ausschläge spürbar ab. Eine beträchtliche Hemmung beider Parameter konnte mit 210 $\mu\text{g/ml}$ erreicht werden. Diese Arbeiten besagten jedoch nichts über den Angriffspunkt der Barbiturate am Darm. Emellin (1941) vermutete einen Atropin-ähnlichen Effekt, besonders für N-methylierte Barbiturate.

Quigley und Phelps (1934) waren der Meinung, daß diese Stoffklasse entweder direkt an der glatten Muskelzelle angreift oder über einen Eingriff in die intrinsische Innervierung wirkt.

Walker und Necheles (1956) studierten den Effekt von Pentobarbital, Barbitol und Amobarbital gegenüber der durch Barium stimulierten intestinalen Aktivität in vivo. Intravenöse BaCl_2 -Injektionen bei Hunden regten die Darmmotilität an. Da Atropin die Aktivitätssteigerung nach Barium hemmte, sprachen die Autoren Barium cholinerge Effekte zu. Die Barbiturate unterdrückten in ähnlicher Weise wie Atro-

pin die Zunahme der Darmmotilität nach Barium-Injektionen. Walker und Necheles meinten deshalb, daß die Barbiturate möglicherweise die cholinergen Effekte von Barium antagonisieren. Eine direkte, muskulotrope Wirkung schlossen sie nicht aus.

Naess und Schanche (1957) untersuchten die Wirkung von Amobarbital, Hexobarbital und Thiopental an isolierten Meerschweinchen- und Rattendärmen. Als Stimulantien wählten sie Ach, 5-HT, Substanz P, Histamin, Nicotin, BaCl_2 , KCl, ATP und elektrische Impulse (Reizparameter: Reizbreite 4 msec, Frequenz 10/sec, Stromstärke 70 mA) aus. Alle Kontraktionen konnten mehr oder minder im selben Ausmaß antagonisiert werden, außer denen, die durch Nicotin und Elektroschocks provoziert worden waren. 40-100 $\mu\text{g/ml}$ der verschiedenen Barbiturate waren nötig, um die Muskelzuckungen völlig zu unterdrücken. Ein Unterschied in der Wirkungsstärke der drei Stoffe konnte nicht festgestellt werden. Der Hemmeffekt war reversibel.

Nicotin-Kontraktionen wurden durch geringe Barbituratkonzentrationen antagonisiert. Der Tonus des Meerschweinchenileums wurde im Gegensatz zum Rattendarm nicht herabgesetzt.

N-methylierte Barbiturate wie Hexobarbital schienen einen Atropin-ähnlichen Effekt aufzuweisen (s. auch Emellin, 1941), da sie manchmal gegenüber den Ach-Kontraktionen stärker wirksam waren als gegen die durch andere Stimulantien hervorgerufenen Kontraktionen. Zu den übrigen Barbituraten gab es keine signifikanten Unterschiede.

Thiobarbiturate hatten besonders bei ihrer ersten Anwendung einen stimulierenden Effekt auf das Meerschweinchenileum. Sie riefen Ach-ähnliche Kontraktionen und eine Tonusanhebung hervor. Nach dem Abklingen der initialen Excitation wirkten die Thiobarbiturate ebenfalls hemmend.

Aus ihren Ergebnissen schlossen Naess und Schanche, daß die Barbiturate keine spezifischen, antagonistischen Aktionen entfalten, sondern daß sie allgemein depressiv auf

die Darmmuskulatur einwirken. Die besondere Nicotinempfindlichkeit erklärten die beiden mit einer schon bekannten Beeinträchtigung der ganglionären Transmission durch Barbiturate, die zu der allgemeinen Empfindlichkeitsabnahme der Muskulatur gegenüber Ach hinzukommt.

Einen vermehrt direkten, postsynaptischen Angriffspunkt am Darm nehmen auch Mayer et al. (1981) an. Sie untersuchten Barbital und Pentobarbital am isolierten Meerschweinchenileum (LM/MP-Präparat*). Sie reizten einmal den Darm mit Elektroschocks, das andere Mal mit Ach. Die Kontraktionen, die durch die 'field stimulation' (Reizparameter: Reizbreite 1 msec, Frequenz 0.1/sec, Spannung 90-100 V) erzeugt wurden, konnten mit Atropin (4×10^{-8} M) komplett unterdrückt werden. Das spricht gegen eine direkte Erregung der glatten Muskelzellen, aber für eine indirekte Stimulation über eine Reizung der intramuralen Nerven. Die beiden Barbiturate hemmten die Kontraktionen, die direkt durch Ach und indirekt durch elektrische Stimulation ausgelöst wurden, in etwa gleich stark. Mayer et al. vermuteten deshalb, daß der Wirkort der Barbiturate zu mindestens 70% an der intestinalen Muskulatur liegt.

In einer vorangehenden Arbeit bemerken dieselben Autoren (Mayer et al., 1980), daß Calcium-Ionen für die Wirkung von Barbituraten am LM/MP-Präparat im Gegensatz zu Opiaten und Alkoholen keine wesentliche Rolle spielen.

2.3.3 Diazepam

Zentrale Depressiva hemmen allgemein die gastrointestinale Motilität (Huck et al., 1975). Diazepam und andere Benzodiazepine bilden keine Ausnahme.

So beobachteten Randall et al. (1963) einen schwachen

*) LM/MP-Präparat = longitudinale Muskulatur/myenterischer Plexus-Präparat

antagonistischen Effekt von Diazepam gegenüber durch 5-HT und Histamin ausgelöste Kontraktionen am Meerschweinchen-dünndarm, die allerdings fünfmal effizienter durch Papaverin und Diphenhydramin gehemmt werden konnten. Leme und Rocha e Silva (1965) stellten eine schwache, nicht-kompetitive Hemmwirkung von Diazepam gegenüber Bradykinin-induzierten Kontraktionen am Meerschweinchenileum fest. Gluckman (1965) bestätigte die geringe inhibitorische Wirksamkeit auch für Ach-Kontraktionen am Meerschweinchenileum. Der ED_{50} -Wert lag über $10 \mu\text{g/ml}$.

Leeuwin et al. (1975) verglichen die Wirkungsstärke von Diazepam gegenüber Ach, 5-HT und Histamin am Meerschweinchenileum und kamen zu dem Ergebnis, daß die Hemmpotenz gegen alle drei Stimulantien im gleichen Bereich liegt. Campese et al. (1972) untersuchten die Hemmwirkung von Bromazepam auf durch Ach, Histamin, Bradykinin und BaCl_2 hervorgerufene Kontraktionen des gleichen Präparates. Sie registrierten eine nicht-kompetitive Hemmung aller Kontraktionen mit folgenden pD_2 -Werten: Ach 3.68, Histamin 3.51, Bradykinin 3.25 und BaCl_2 3.61. Aus der fast gleichmäßigen Beeinflussung der Kontraktionen schlossen Campese et al., daß Bromazepam unspezifisch spasmolytisch auf die glatte Muskulatur des Meerschweinchenileums wirkt.

Huck et al. (1975) bekräftigten diese Aussage nicht nur für Bromazepam, sondern auch für sechs weitere Benzodiazepine, darunter Diazepam. Die in diesen Versuchen ermittelten pD_2 -Werte für Diazepam gegenüber Carbachol (Ach-Agonist) und BaCl_2 betrugen 4.22 bzw. 4.30. Weiter vermuteten Huck et al., daß die Depression der Darmmotilität in vivo durch Benzodiazepine nicht allein auf die direkte spasmolytische Wirkung zurückgeführt werden kann, sondern daß die zentral dämpfenden Eigenschaften dieser Stoffe zusätzlich zur Hemmung beitragen. Ein Indiz hierfür war die Tatsache, daß in vivo geringere Konzentrationen an Benzodiazepinen zur Reduktion der Darmmotilität notwendig sind als in vitro.

Als Nebenergebnis der Arbeit von Huck soll noch erwähnt werden, daß das organische Lösungsmittel 1,2-Propylenglycol ebenfalls die Carbachol- und BaCl_2 -Kontraktionen antagonisierte und nur etwa 10mal schwächer wirkte als Diazepam. Ähnliche Beobachtungen machten auch Mitolo-Chieppa und Cuomo (1977). Auf den möglichen biochemischen Wirkungsmechanismus von Diazepam an der gastrointestinalen Muskulatur weist die Arbeit von Ishii et al. (1982) hin. Es wurde der Effekt von Diazepam und Flurazepam auf K^+ - und Ca^{++} -induzierten Kontraktionen an *Taenia coli*- und longitudinalen Muskelpräparaten vom Meerschweinchen untersucht. Beide Stoffe hemmten dosisabhängig (Diazepam $\sim$ 0.3-30 $\mu\text{g/ml}$) die Kontraktionen, wobei die tonische Komponente K^+ -induzierter Kontraktionen stärker gehemmt wurde als die phasische. Ähnliche Ergebnisse konnten mit Ca^{++} -Antagonisten erzielt werden. Ishii et al. schlossen aus ihren Beobachtungen, daß die Benzodiazepine Diazepam und Flurazepam möglicherweise die Kontraktionen der gastrointestinalen Muskulatur durch eine Hemmung des transmembranalen Ca^{++} -Influsses reduzieren.

Literaturstellen über die Auswirkungen der Antiepileptica Carbamazepin, Valproinsäure und Ethosuximid auf isolierte Darmpräparate scheinen bislang nicht vorzuliegen.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchstiere und Präparation

Es wurden sowohl männliche als auch weibliche Meerschweinchen zwischen 250 und 500 g verwendet. Wir entzogen den Tieren 24 Stunden vor Versuchsbeginn die feste Nahrung, da nach dieser Vorbereitung der Darm nicht oder nur gering gefüllt ist und deshalb Spontankontraktionen weniger häufig auftreten. Die Meerschweinchen wurden am Versuchstag mittels eines Nackenschlages getötet und durch das Öffnen der Carotiden entblutet. Anschließend wurde das Abdomen in der Medianlinie geöffnet.

Zur Entnahme des Ileums erfaßte der Präparator es am Übergang zum Dickdarm mit den Fingern und trennte es mit einem Scherenschlag vom Caecum ab. Das Ileum findet man am einfachsten dadurch, daß der durch seine Dicke besonders auffallende Blinddarm (Caecum) bis zu seinem aboralen Ende verfolgt wird. Hier verzweigt sich das Caecum plötzlich und mündet in das sehr viel dünnere Colon. 1-2 cm vor diesem Übergang mündet das Ileum in das Caecum.

Durch kräftiges und gleichmäßiges Ziehen in einem Zug wurden ca. 30 cm des insgesamt 80 cm langen Ileums vom Mesenterium befreit und danach mit einem Schnitt herausgelöst. Vom isolierten Dünndarmteil wurden die aboralen 10 cm verworfen und der Rest sofort in flache, mit Nährlösung gefüllte Petrischalen gebracht.

Die oralen 40-50 cm des Ileums werden selten im Versuch verwendet, da sie geringe Kontraktionsamplituden erbringen. Die terminalen 10 cm benutzten wir nicht, weil dieser Abschnitt durch das Quetschen mit den Fingern besonders beansprucht wird und dazu nach Munro (1951) und Bauer (1982) in diesem Bereich excitatorische adrenerge α -Rezeptoren vorhanden sind, die die Versuchsergebnisse verändern könnten.

Das zum Versuch verwendete Ileumteil wurde in 2 cm lange

Stücke zerschnitten, die vorsichtig durchgespült und dann in eine Petrischale mit sauberer Nährlösung verbracht wurden.

Zur Befestigung der Präparate in der Meßeinrichtung benutzten wir Synthacord-Fäden Nr. 3 Ph.Eur. II (= chirurgisches Perlon-Nahtmaterial, Stärke 00), die durch die Darmwand gestochen und verknotet wurden. Der etwa 15 cm lange Faden am oberen Ende des Darmstücks führte später zum isometrischen Kraftaufnehmer; der untere wurde um die intraluminal, konische Elektrode gebunden, die hierfür eingekerbt war (s. auch Abb. 4). Durch die Fixierung des Darmstücks auf diese Weise, wie in der Abbildung 4 dargestellt, werden vor allem die Kontraktionen der longitudinalen Muskulatur erfaßt.

3.2 Versuchsanordnung

Es standen drei 20 ml Organbäder zur Verfügung. In zweien wurden parallel Versuche durchgeführt; je Organbad ein Präparat. Im dritten Bad bewahrten wir die Darmstücke für die folgende Versuchsserie auf.

Als Nährlösung diente eine Mg^{++} -freie Tyrodelösung, die täglich frisch aus zwei Stammlösungen angesetzt wurde (Zusammensetzung der Tyrode s.S. 83). Die Tyrodelösung hatte stets eine Temperatur von 37-38°C. Die Temperierung erfolgte über ein Doppelwandgefäßsystem. Der äußere Hohlraum wurde mit Hilfe eines Ultra-Thermostaten K 0468 von Pabst mit 37-38°C warmem Wasser durchströmt. Der mit dem temperierten Wasser gefüllte Mantel umschloß neben den Organgefäßen auch den Vorratsbehälter der Tyrodelösung, der etwa 2 l faßte. So war gewährleistet, daß bei der Spülung der Präparate 37°C warme Tyrode nachfloß. Die Organbäder und der Vorratsbehälter mit Doppelwand waren aus Plexiglas konstruiert.

Die Begasung erfolgte mit Carbogen (95% O_2 , 5% CO_2).

Zur Spülung wurde das Austauschverfahren benutzt. Das heißt, daß die alte Nährlösung vollständig aus dem Organgefäß abgelassen und durch frische ersetzt wird. Das Darmstück liegt dabei für einen Moment trocken, und die Auftriebskräfte im Wasser fallen weg. Das kann zu einer leichten, aber unbedeutenden Irritation des Darms führen. Die Regulierung des Zu- und Abflusses der Lösung geschah mittels eines Dreiwegehahnes, der das Organbad mit dem Vorratsbehälter bzw. der Absaugvorrichtung verband. Das Spülen erfolgte zum einen, um frische Nährlösung zuzuführen, und zum anderen, um Pharmaka auszuwaschen. Die Bade- flüssigkeit wurde dann wenigstens dreimal in 20 sec-Ab- ständen gewechselt.

Als Stimulationstechnik wählten wir die elektrische Rei- zung des Darmstücks aus, da aufgrund der langen Chronaxie der glatten Muskulatur mit entsprechenden Reizparametern selektiv intramurale neuronale Elemente aktiviert werden können (Paton, 1975; Gershon, 1981). Die Stimulierung des Präparats wurde nach der von Paton (1955) beschriebenen Methode mit coaxialen Elektroden durchgeführt.

Die Elektroden bestanden aus 2 mm dickem V2A-Stahl, der zur Isolierung mit Plastik überzogen war. Nur die zur Rei- zung benötigten Enden blieben frei. Die krückstockförmige Anode diente gleichzeitig als unterer Befestigungspunkt für das senkrecht im Bad stehende Darmstück. Das bloße En- de dieser Elektrode ragte in das Darmlumen hinein. Die Kathode besaß die Form einer Ringelektrode. Sie wurde an das obere Ende des Präparats plaziert. Beide Elektroden waren in einen Plastikdeckel eingelassen, der in der Mitte eine runde Öffnung aufwies. Der Deckel wurde über das of- fene Organgefäß gestülpt und durch einen besonderen Mecha- nismus befestigt, so daß dann die Elektroden und indirekt der Darm sicher fixiert waren. Durch eine Öffnung im Pla- stikdeckel führte der obere Faden zum isometrischen Kraft- umwandler, und man konnte hierdurch die Pharmaka mit einer Tuberkulinspritze direkt ins Bademedium geben (s. auch Abb. 4).

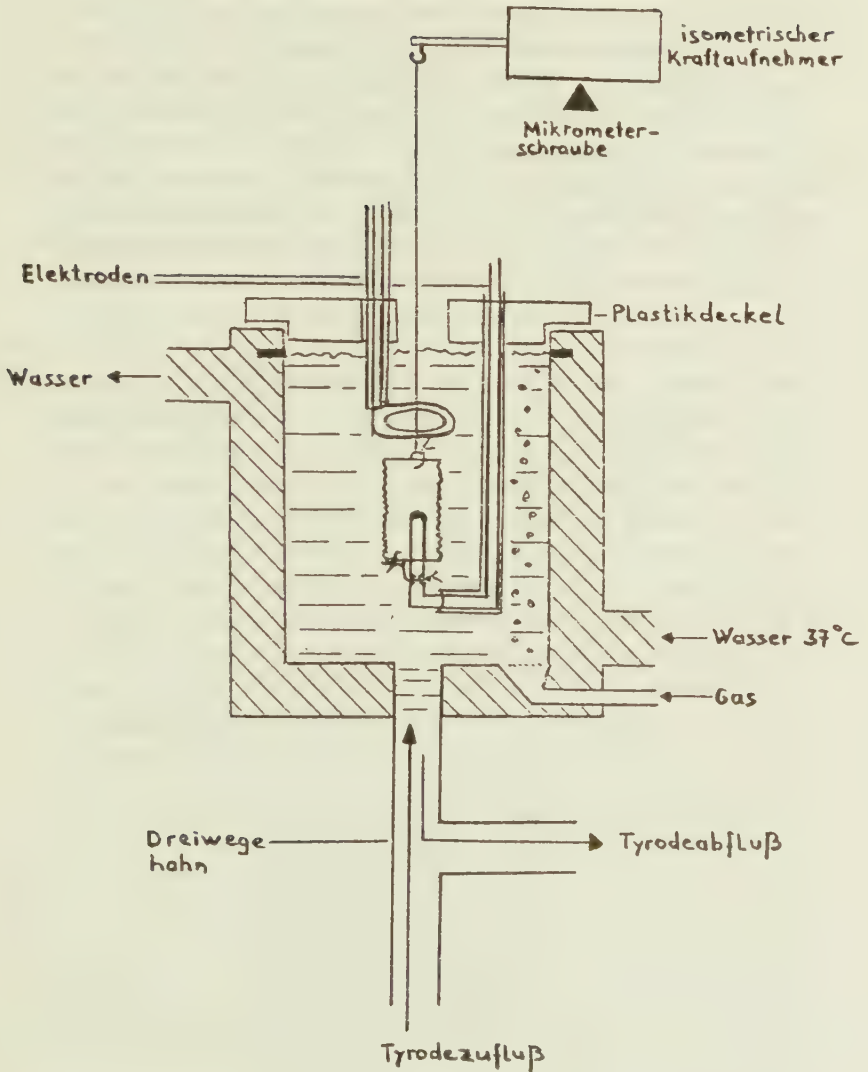


Abb. 4: Schema der Versuchsanordnung für die Erfassung von Muskelkontraktionen unter isometrischen Bedingungen, modifiziert nach Stephens (1975)

Durch die coaxiale Anordnung der Elektroden können die zur elektrischen Reizung benötigten Stromwerte vergleichsweise niedrig gehalten werden. Mit dieser Methode ist es möglich, durcheinzelne Rechteckimpulse von 1 msec Breite und weniger und ab 1 V aufwärts Kontraktionen auszulösen. Zur maximalen Reizantwort werden Spannungswerte zwischen 5-25 V benötigt. Diese Angaben von Paton (1955) stimmten mit unseren Beobachtungen überein. Durch Veränderungen der Reizparameter läßt sich mit Hilfe dieser Methode die Stärke der Kontraktionen gut abstufen (entweder durch Variation der Spannungswerte oder der Reizfrequenz; s. auch Kapitel 3.3).

Als nachteilig bei dieser Elektrodenanordnung kann sich vor allem die intraluminal Position der Anode erweisen. Durch sie wird die Entleerung des Darmschleims, der auch in vitro laufend weiterproduziert wird, behindert. Das führt zu einem intraluminalen Druckanstieg, durch den störende Kontraktionswellen ausgelöst werden können. Bei unserer Fixierung des Darmstücks in der Versuchseinrichtung konnte der Schleim ungehindert durch die offene, obere Darmöffnung ausgestoßen werden. Bei langer Reizung und hochfrequenten Impulsen besteht die Gefahr, daß Produkte der Elektrolyse im Darmlumen akkumulieren und dort lokal den pH-Wert verschieben (Paton, 1975). Um dem vorzubeugen, wurde häufig die Badeflüssigkeit gewechselt.

Die elektrischen Rechteckimpulse lieferte ein Stimulator des Typs 215/II der Hugo Sachs Elektronik KG, March/Freiburg.

Die Aufzeichnung der Kontraktionen erfolgte über einen isometrischen Kraftumwandler (Havard Apparatus Isometric Force Transducer, Millis/Massachusetts, USA) auf mm-Papier mittels eines Tintenschreibers (Havard Apparatus Recorder). Die Regulierung der Papiertransportgeschwindigkeit übernahm ein Speed Chart Mover derselben Firma.

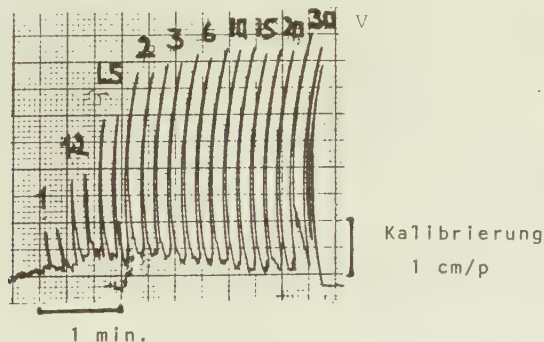
3.3 Versuchsdurchführung

Nachdem die Präparate in die Bäder gebracht worden waren, ließen wir 20 min. als Eingewöhnungszeit verstreichen. Die Organe wurden dann mit 0.5 g vorgespannt und wiederum 20 min. in Ruhe gelassen. Danach erfolgten probeweise elektrische Reizungen der Präparate mit den der jeweiligen folgenden Versuchsserie entsprechenden Impulsen, um die Eignung zu testen und um konstante Reizantworten zu erhalten, bevor die eigentlichen Versuche begannen. Ein Darmstück blieb ungefähr zwei Stunden im Versuch.

Im ersten Versuchsabschnitt wählten wir zur Untersuchung der Antiepileptica-Wirkung gegenüber elektrisch induzierten Kontraktionen vier verschiedene Reizungsformen aus, bei denen wir durch Variation der Reizintensität und der Impulszahl abgestufte Kontraktionen auslösten.

1. In der ersten Anordnung verwendeten wir Einzelreize in Abständen von 10 sec mit einer Reizbreite von 0.5 msec und kontinuierlich gesteigerter Reizintensität. Die Anfangsspannung betrug 1 V, und über die Stufen 1.2, 1.5, 2, 3, 6, 10, 15, 20 und 30 V wurden mit jedem Spannungswert 2-3 Kontraktionen ausgelöst.

Beispiel zu 1:

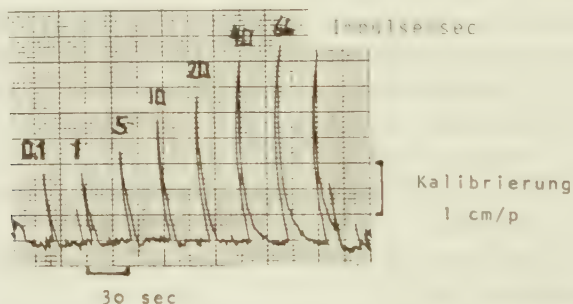


Reizparameter: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec, Reizbreite 0.5 msec, Spannung 1-30 V

2. In der zweiten Versuchsanordnung wurden außer Einzelreizen auch Serienreize appliziert. Dabei wurden die Impulszahlen/sec unter Konstanthaltung der Reizintensität variiert. In dieser Anordnung wurde mit niedriger Intensität gereizt: 1.5-3 V. Die Reizbreite betrug wie in allen Versuchen 0.5 msec. Die Reizungsdauer war 3 sec, der Reizungsrhythmus 30 sec. Pro Reizungsdauer ergab sich ein Ausschlag.

Die ausgesuchten Impulszahlen/sec waren 0.1, 1, 5, 10, 20, 40 und 66. Das bedeutet, daß die Darmstücke bei einer Impulszahl/sec von 0.1 und einer Reizungsdauer von 3 sec mit 1 Rechteckimpuls, bei 1 mit 3, bei 5 mit 15, bei 10 mit 30 Rechteckimpulsen etc. gereizt werden.

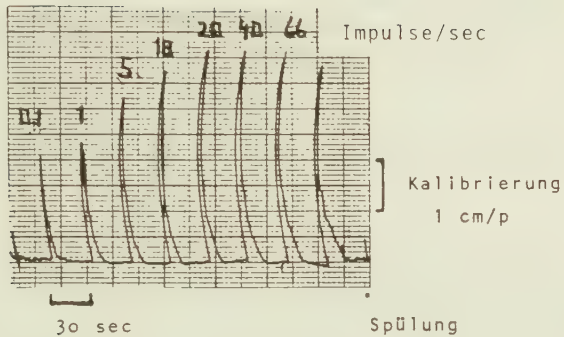
Beispiel zu 2:



Reizparameter: Einzel- bzw. Serienreiz geringer Intensität mit steigender Impulszahl, Reizbreite 0.5 msec, Spannung 1.5-3 V, Reizungsdauer 3 sec, Reizungsrhythmus 30 sec, Impulszahl/sec 0.1-66

3. Die dritte Versuchsanordnung ist identisch mit der zweiten bis auf die Reizintensität. Hier wurde mit einer supramaximalen Spannung gearbeitet: 30 V.

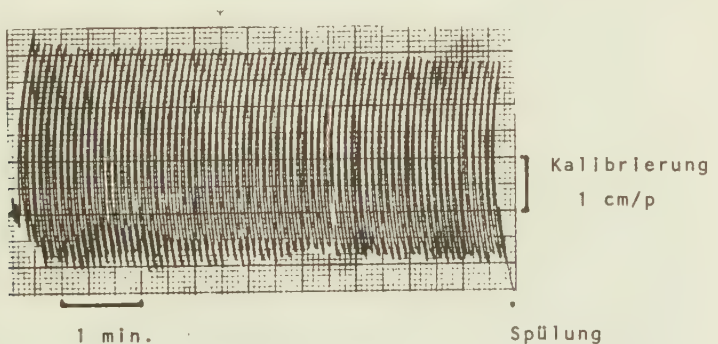
Beispiel zu 3:



Reizparameter: Supramaximaler Einzel- bzw. Serienreiz mit steigender Impulszahl, Reizbreite 0.5 msec, Spannung 30 V, Reizungsdauer 3 sec, Reizungs-
rhythmus 30 sec, Impulszahl/sec 0.1-66

4. Viertens wurde eine Dauerreizung mit Einzelreizen alle 5 sec bei einer supramaximalen Spannung (30 V) und der üblichen Reizbreite (0.5 msec) über 5 min. appliziert.

Beispiel zu 4:



Reizparameter: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec, Reizbreite 0.5 msec, Spannung 30 V, Reizungsrhythmus 5 sec, Reizungszug 5 min.

Die Antiepileptica wurden bei den Versuchsanordnungen 1, 2 und 3 drei Minuten vor Beginn der elektrischen Stimulation mittels einer Tuberkulinspritze (Zugabevolumen bis 0.5 ml) direkt ins Organbad gegeben. Carbamazepin bildete eine Ausnahme; es wurde mit einer 10 µl-Glasspritze (Kloehn Co., Inc., Whittier/Calif.) verabreicht. Bei der Versuchsanordnung 4 gaben wir die Antiepileptica nach einer Laufzeit des Reizungszugs von 2 min. zu (s. Markierung + bei Beispiel 4).

Nach Beendigung eines Reizzuges wurden die Antiepileptica sofort durch dreimaliges Spülen ausgewaschen und eine Pause von 8-10 min. zur Beruhigung und Regeneration des Darms eingelegt. Wir testeten 3-5 verschiedene Konzentrationen eines Antiepilepticums an einem Darmstück. Die Dosierungen orientierten sich dabei an den therapeutischen Plasmaspiegeln der einzelnen Antikonvulsiva (s. Tab. 1).

Phenytoin:	1-2-4-10-20 µg/ml
Phenobarbital-Na:	5-25-50-100 µg/ml
Carbamazepin:	1-3-6-12 µg/ml
Diazepam:	0.5-1-2-4 µg/ml
Na-Valproat:	5-50-100-250-500 µg/ml
Ethosuximid:	25-50-100-200 µg/ml

Tab. 1: Einige pharmakokinetische Daten der untersuchten Antiepileptica mit der Angabe des therapeutischen Bereichs, der als Richtlinie für die in den Versuchen verwendeten Konzentrationen herangezogen wurde.

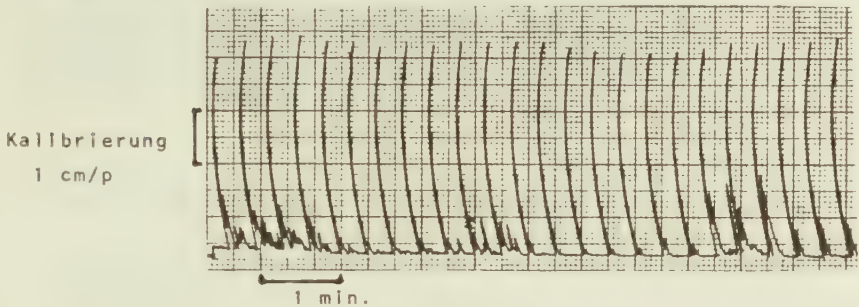
	Säure/Base	pK _a	% Proteinbindung	t 1/2 (h)	ther. Bereich (µg/ml)
Carbamazepin	neutral	-	72-76	25-50	6-12
Diazepam	Base	3.31	98	20-90	> 0.600
Ethosuximid	Säure	9.3	0	30-70	40-100
Phenobarbital	Säure	7.2	60	70-100	10-30
Phenytoin	Säure	8.3, 8.6	90-93	15-20	10-20
Valproinsäure	Säure	4.35	85-95	8-10	50-100

Angaben nach Eadie M.J. and Tyrer J.H. (1980) sowie nach Benet und Sheiner (1981)

Im zweiten Versuchsabschnitt wurden die Wechselwirkungen zwischen bekannten, spezifischen Antagonisten und den Antiepileptica untersucht. Dazu wählten wir drei unterschiedliche Reizanordnungen aus:

5. Repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec.

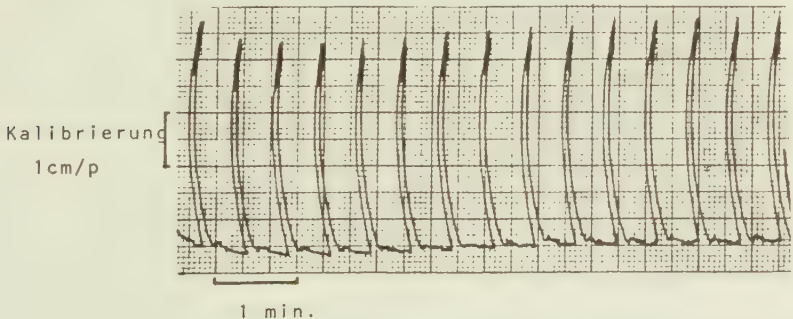
Beispiel zu 5:



Reizparameter: Einzelreize, Reizbreite 0.5 msec, Spannung 3 V, Reizungsrhythmus 20 sec

6. Niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec.

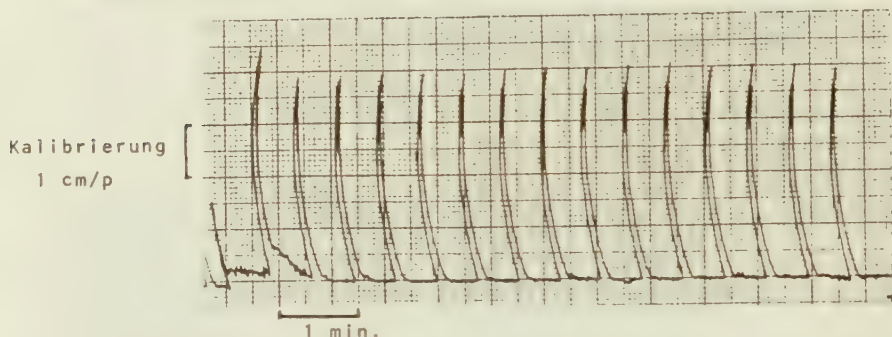
Beispiel zu 6:



Reizparameter: Serienreiz, Reizbreite 0.5 msec, Spannung 30 V, Reizungsdauer 3 sec, Reizungsrhythmus 30 sec, Impulszahl/sec 1

7. Hochfrequente (66 Impulse/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec.

Beispiel zu 7:



Reizparameter: Serienreize, Reizbreite 0.5 msec, Spannung 30 V, Reizungsdauer 3 sec, Reizungsrhythmus 30 sec, Impulszahl/sec 66

In diesem zweiten Versuchsabschnitt wurden effektive Dosierungen der Antagonisten 3-5 min. vor Zugabe der Antikonvulsiva ins Bademedium gegeben. Nach Applikation der Antiepileptica wurde die Reizung noch 3 min. fortgesetzt und dann gestoppt; danach wenigstens dreimal gespült. Die Ruhepause dauerte 10 min. Es wurde an einem Darmstück das Verhalten von 3-4 Antikonvulsiva mit und ohne Antagonisten geprüft (s. auch die Beispiele ab S.143).

Die verwendeten Antagonisten mit Konzentrationsangaben:

- Hexamethonium HCl 30 µg/ml (Ganglienblocker)
- Pyribenzamin HCl 0.3 µg/ml (Antihistaminicum)
- Phentolamin 0.3 µg/ml (α-Blocker)
- Propanolol HCl 0.3 µg/ml (β-Blocker)
- Bicucullin 10 µg/ml (GABA-Antagonist)
- Picrotoxin 10 µg/ml (GABA-Antagonist)
- Cyproheptadin HCl 0.01 und 0.05 µg/ml (5-HT-Antagonist)
- Tetrodotoxin 0.07 µg/ml und 0.003-0.012 µg/ml
- Atropinsulfat 1 µg/ml und 0.001-0.002 µg/ml (muscarinergischer Rezeptorenblocker)
- Guanethidin s. unten

Die Antiepileptica mit Konzentrationsangabe für den zweiten Versuchsabschnitt:

- | | |
|--------------------|-----------------|
| - Phenytoin | 10 und 20 µg/ml |
| - Na-Valproat | 250 µg/ml |
| - Carbamazepin | 12 µg/ml |
| - Phenobarbital-Na | 100 µg/ml |
| - Diazepam | 4 µg/ml |

Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die Salze.

Guanethidin, das postganglionäre sympathische Neuronen blockt, wurde den Meerschweinchen 24 Stunden vor Versuchsbeginn i.p. injiziert (20 mg/kg). Alle vorbehandelten Tiere bekamen eine Diarrhöe. Der Dünndarm war gerötet. Die Kontraktionen der Darmstücke schienen jedoch unbeeinflusst im Vergleich zu Präparaten von unbehandelten Tieren.

Da Atropin schwer auszuwaschen ist, konnten jeweils nur 1, höchstens 2 Versuche an einem Präparat ausgeführt werden.

Atropin und Tetrodotoxin entwickelten in Versuchsanordnung 5 und 6 nahezu einen 100%igen Hemmeffekt. Deshalb arbeiteten wir in diesem Bereich mit submaximalen Konzentrationen (Atropinsulfat: 0.001-0.002 µg/ml; Tetrodotoxin 0.003-0.012 µg/ml), die eine Eigenwirkung von 10-20% Reduktion hatten, um die Hemmwirkung der Antiepileptica noch testen zu können.

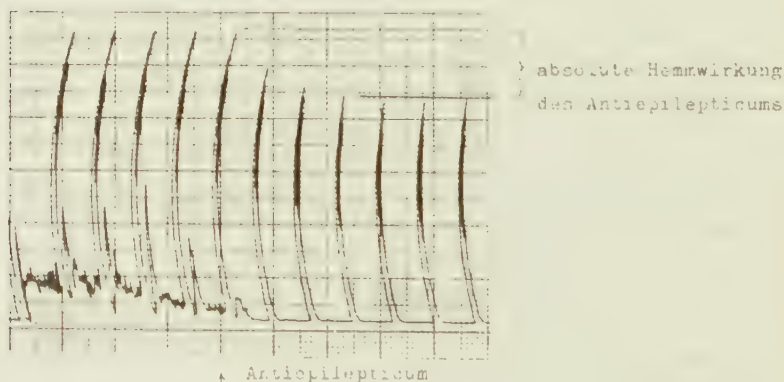
Ethosuximid zeigte im ersten Versuchsabschnitt keine oder nur eine sehr geringe Eigenwirkung und wurde deshalb für die weiteren Versuche mit den Antagonisten ausgeschlossen. Die Ergebnisse der Versuchsanordnung 1-3 für Diazepam (s.S. 98-99) ließen einen vorwiegend direkten, muskulotropen Wirkungsmechanismus vermuten, wie er in der Literatur (s.S. 65-67) beschrieben wird. Deswegen beschränkten wir uns im zweiten Versuchsabschnitt damit, Diazepam gegenüber Tetrodotoxin zu untersuchen.

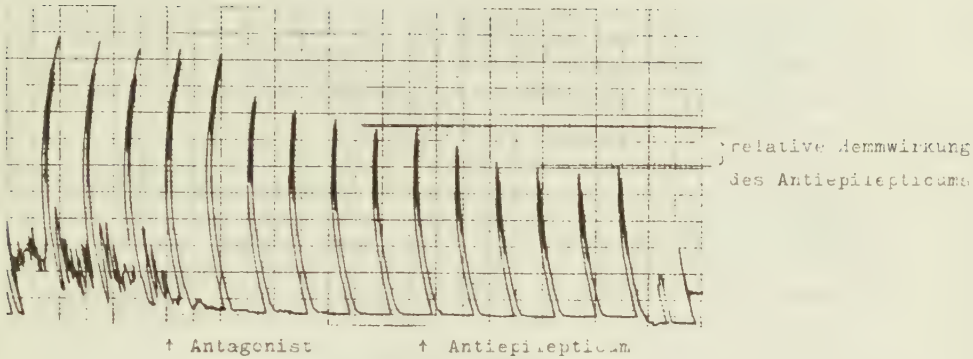
3.4 Versuchsauswertung

Die Wirkungen der Antiepileptica werden in prozentualer Reduktion der Kontraktionsamplituden ausgedrückt. Als Vergleich dienten im ersten Versuchsabschnitt die Ausschlagshöhen der Reizzüge vor und nach einem Reizzug mit Antiepilepticum, um eventuelle Veränderungen der Kontrolle mitzuerfassen.

Im zweiten Abschnitt wurden als Bezugswerte die Kontraktionshöhen vor Zugabe der Antikonvulsiva herangezogen. Das ergab zum einen die absolute Hemmwirkung der Antiepileptica, das heißt die Reduktion der unbeeinflussten Ausschläge, und zum anderen die relative Hemmwirkung der Antikonvulsiva. Die relative Hemmung bezieht sich dabei auf den Effekt der Antiepileptica, der sich, nachdem die Eigenwirkung der Antagonisten (soweit sichtbar vorhanden) sich stabilisiert hatte, einstellte. Das bedeutet, die Bezugswerte waren die Kontraktionsamplituden, die sich nach Zugabe der Antagonisten ergaben.

Beispiel:





Die Wirkung der Antiepileptica wurde an 6-12 verschiedenen Darmstücken von 3 Meerschweinchen untersucht. Im zweiten Versuchsabschnitt begnügten wir uns mit 4 Einzelergebnissen, wenn keine Beeinflussung des Effektes durch die Antagonisten zu erkennen war.

Zur graphischen Darstellung und statistischen Beurteilung entschieden wir uns für das geometrische Mittel mit Standardabweichung (S.D.), da häufig innerhalb der Ergebnisgruppen keine arithmetische Normalverteilung vorhanden war. Die Signifikanz wurde mit Hilfe des U-Tests nach Wilcoxon, Mann und Whitney (Sachs, 1978) untersucht, Signifikanzgrenze $p = 0.05$.

3.5 Verwendete Substanzen und Bezugsquellen

Na-Valproat	Desitin Werk, Carl Klinke GmbH, Hamburg
Carbamazepin	"
Ethosuximid	"
Phenytoin*	"

*) Im ersten Versuchsabschnitt wurde neben Phenytoin auch Phenhydan® mitgetestet. Phenhydan® ist eine 5%-Phenytoin-Lösung mit 50% Glycofurol (= Tetrahydrofurfurylalkohol-

Diazepam	Valium®, Hoffman la Roche AG, Grenz- ach-Wyhlen
Phenobarbital-Na	Fluka AG, Buchs/Schweiz
Guanethidin	Ismelin®, CIBA AG, Wehr/Baden
Phentolamin	Regitin®, "
Pyribenzamin HCl	= Tripelenamin, "
Propanolol HCl	Dociton®, Rhein-Pharma, Heidelberg
Atropinsulfat	Merck, Darmstadt
Cyproheptadin HCl	Sharp und Dohme GmbH, München
Hexamethonium HCl	Fluka AG, Buchs/Schweiz
Picrotoxin	"
Bicucullin	Sigma, München
Tetrodotoxin	" , St. Louis/USA
Carbaminoylcholin- chlorid	Carbachol®, Fluka AG, Buchs/Schweiz
Dimethyl-phenyl- piperaziniumjodid	"
Histamin	Histaminidihydrochlorid, Merck, Darmstadt
5-Hydroxytryptamin	Serotonin-Kreatininsulfat, Merck, Darmstadt
Glycofurol	= Tetrahydrofurfurylalkoholpoly- äthylenglykoläther, Desitin Werk, Carl Klinke GmbH, Hamburg

Alle Substanzen wurden am Versuchstag frisch in demineralisiertem Wasser gelöst. Diazepam wurde in Lösung gebracht durch Zusatz von 2-3 Tropfen 1 n HCl zur Ausgangslösung, Phenytoin durch Alkalisierung mit 1 n NaOH. Die fertigen Gebrauchslösungen verschoben den pH-Wert der Badeflüssigkeit nicht.

Carbamazepin wurde aufgrund seiner Wasserunlöslichkeit in

polyäthylenglykoläther) als Lösungsvermittler. Da die Kombination Phenytoin und Glycofurol vielfach stärker hemmte als eine wässrige Phenytoin-Lösung, untersuchten wir in einigen Testreihen die Eigenwirkung von Glycofurol.

Glycofurol gelöst und nur in μ l-Mengen verabreicht, um einer pharmakologischen Eigenwirkung des Lösungsvermittlers vorzubeugen. Vorversuche zeigten, daß die maximal dem 20 ml-Bad zugegebene Menge von 10 μ l Glycofurol keine eigene Aktivität am Darm entfaltete.

Anhang: Herstellung und Zusammensetzung der Tyrodelösung

Stammlösungen I und II zur Herstellung der Tyrodelösung:

Lösung I 400.0 NaCl
 10.0 KCl
 10.0 CaCl₂
 ad 2000.0

Lösung II 50.0 NaHCO₃
 2.5 NaH₂PO₄
 ad 1000.0

Beim Ansetzen der frischen Lösung werden 80 ml der Stammlösung I auf 1000 ml mit demineralisiertem Wasser aufgefüllt. Dasselbe gilt für 40 ml der Lösung II. Die Elektrolytlösungen werden dann gemischt unter Zusatz von 0.1% Glucose.

Zusammensetzung der Tyrodelösung:

	g/l	MG	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	
NaCl	8.0	58.44	137	-	-	137	-	-	
KCl	0.2	74.55	-	2.7	-	2.7	-	-	
CaCl ₂	0.2	110.98	-	-	3.6	3.6	-	-	
NaHCO ₃	1.0	84.0	11.9	-	-	-	11.9	-	
NaH ₂ PO ₄	0.05	199.97	0.4	-	-	-	-	0.4	
			149.3	2.7	3.6	143.3	11.9	0.4	meq/l

0.1% Glucose zugesetzt
dest. Wasser ad 1000 ml

4. ERGEBNISSE

4.1 Die Eigenwirkung der Antiepileptica

4.1.1 Phenytoin

Die Daten und die graphischen Darstellungen der Wirkung von Phenytoin sind in der Tabelle 2 und in den Abbildungen 5-8 zusammengefaßt.

Phenytoin ohne Lösungsvermittler zeigte im Konzentrationsbereich 1-4 $\mu\text{g/ml}$ eine sehr geringe oder keine Wirkung. Bei 10 $\mu\text{g/ml}$ war eine spürbare Reduktion der Kontraktionsamplituden zu vermerken (s. Abb. 25 und 27), die bei 20 $\mu\text{g/ml}$ beträchtlich war.

Phenytoin reduzierte dabei stärker die Kontraktionen, die durch submaximale Reizintensitäten und niedrige Reizfrequenzen ausgelöst wurden. Die Reizantworten nach supramaximaler und hochfrequenter Stimulation wurden in einem geringeren Ausmaß gehemmt (s. Tab. 2 und Abb. 5-8). Das heißt, es bestand eine Abhängigkeit zwischen der Hemmwirkung von Phenytoin und der Reizintensität bzw. Reizfrequenz.

Der Hemmeffekt trat fast augenblicklich ein und erreichte sein Maximum nach 2-3 min. Der Zeitverlauf ist in der Versuchsanordnung 4 (repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec) zu sehen (Abb. 31).

Die den Lösungsvermittler Glycofurol enthaltende handelsübliche Injektionslösung Phenhydan® zeigte im Vergleich zu wässrigen Phenytoin-Lösungen ungleich stärkere Hemmwirkung (Tab. 3; s. auch Abschnitt 4.4., S.124).

Tab. 2: Der Einfluß von Phenytoin auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen Reizparametern. Die Wirkung ist als prozentuale Reduktion angegeben. Angeführt werden die geometrischen Mittelwerte und der Bereich ± 1 Standardabweichung. n = Anzahl der Einzelergebnisse, aus denen das geometrische Mittel bestimmt wurde.

a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec (Abb. 25)

	4 µg/ml	n	10 µg/ml	n	20 µg/ml	n
1.5 V	6.5 (1 -39)	7	71 (47 -100)	7	100	7
2 V	12 (2.6-51)	7	62 (34 -100)	7	100	7
3 V	8.7 (2.1-37)	8	58 (36 - 95)	8	100	8
6 V	13 (5.7-29)	8	56 (36 - 86)	8	100	8
10 V	14 (8.1-24)	8	53 (35 - 79)	8	99 (98- 99)	8
15 V	10 (4.5-22)	8	48 (32 - 73)	8	98 (96- 99)	8
20 V	9.9 (5 -19)	8	42 (28 - 63)	8	97 (94-100)	8
30 V	8.4 (6.9-16)	8	36 (26 - 51)	8	95 (89-100)	8

b) Versuchsanordnung 2: Einzelreize bzw. Serienreize niedriger Intensität mit steigender Impulszahl (Abb. 27)

Impulse/sec	4 µg/ml	n	10 µg/ml	n	20 µg/ml	n
0.1 "	3.9 (0.9-17)	7	50 (30 -82)	7	100	7
1 "	2.3 (0.8-6.8)	7	40 (24 -66)	7	99 (97-100)	7
5 "	3.1 (1 -9.9)	7	22 (10 -50)	7	95 (87-100)	7
10 "	4 (1.1-14)	7	17 (4.4-67)	7	91 (80-100)	7
20 "	4.6 (1.5-14)	7	20 (9.9-42)	7	84 (68-100)	7
40 "	6.9 (2.6-18)	7	25 (16 -38)	7	78 (59-100)	7
66 "	7.9 (2.8-22)	7	26 (17 -40)	7	76 (57-100)	7

c) Versuchsanordnung 3: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl

Impulse/sec	4 µg/ml	n	10 µg/ml	n	20 µg/ml	n
0.1 "	9.7 (3.8-25)	8	29 (18 -45)	8	89 (79-100)	6
1 "	11 (8.5-15)	8	26 (17 -40)	8	82 (66-100)	6
5 "	9.6 (6.3-15)	8	16 (7.4-36)	8	55 (38- 81)	6
10 "	8.7 (5.2-15)	8	17 (11 -27)	8	40 (27- 59)	6
20 "	8.9 (5.7-14)	8	15 (7.3-32)	8	29 (18- 45)	6
40 "	8.7 (4 -19)	8	18 (12 -27)	8	25 (15- 41)	6
66 "	8.6 (4 -18)	8	18 (12 -26)	8	29 (22- 38)	6

(Fortsetzung Tab. 2)

Der Einfluß von Phenytoin auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen Reizparametern.

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec (Abb. 31)

4 µg/ml	n	10 µg/ml	n	20 µg/ml	n
14 (7.8-26)	8	48 (31 - 72)	8	98 (97- 99)	6

e) Versuchsanordnung 5: Repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec

10 µg/ml	n	20 µg/ml	n
69 (55 - 88)	49	99 (96-100)	10

f) Versuchsanordnung 6: Niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec

10 µg/ml	n	20 µg/ml	n
44 (32 - 60)	46	89 (80- 97)	13

g) Versuchsanordnung 7: Hochfrequente (66 Impulse/sec), supramaximale Serienreize

10 µg/ml	n	20 µg/ml	n
37 (25 - 55)	36	62 (51- 74)	24

Tab. 3: Der Einfluß von 1 µg/ml Phenhydan® auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen Reizparametern. Maßeinheit: prozentuale Reduktion der Kontraktionen. $\bar{x}$: geometr. Mittel $\pm$ 1 Standardabweichung. n: Anzahl der Einzelergebnisse.

- a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec
- c) Versuchsanordnung 2: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl
- d) Versuchsanordnung 3: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec

a)	1 µg/ml	n	c)	1 µg/ml	n	d)	1 µg/ml	n
			Impulse/sec					
1.5 V	93 (87-100)	8	0.1 "	80 (62-100)	7	75 (74-77)	7	
2 V	87 (69-100)	8	1 "	66 (53- 82)	7			
3 V	84 (66-100)	8	5 "	56 (43- 74)	6			
6 V	75 (57-100)	8	40 "	38 (27- 56)	6			
10 V	70 (53- 93)	8						
15 V	67 (50- 89)	8						
20 V	62 (47- 79)	8						
30 V	58 (45- 74)	8						

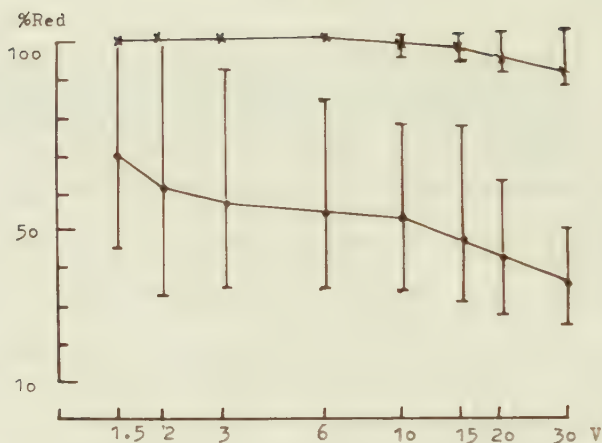


Abb. 5: Reiz-Wirkungskurve für Phenytoin bei Reizung mit Einzelreizen von steigender Intensität. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 2 zu entnehmen.
 x---x = 20 µg/ml
 ●---● = 10 µg/ml

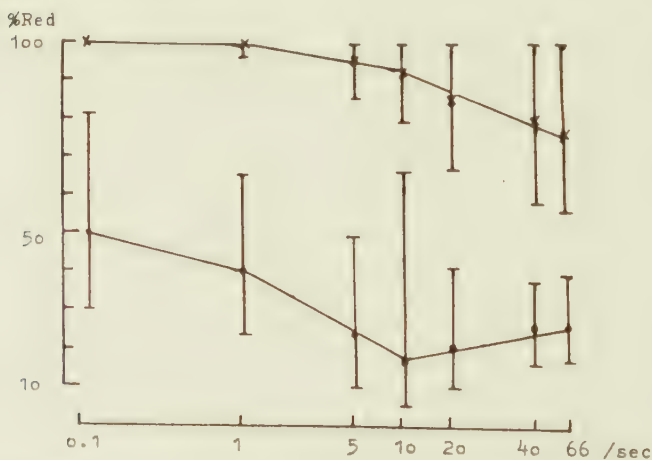


Abb. 6: Reiz-Wirkungskurve für Phenytoin bei Reizung mit Einzel- bzw. Serienreizen geringer Intensität mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 2 zu entnehmen.
 x---x = 20 µg/ml
 ●---● = 10 µg/ml

(Fortsetzung Tab. 4)

b) Versuchsanordnung 2: Einzelreize bzw. Serienreize niedriger Intensität mit steigender Impulszahl

Impulse/sec		50 µg/ml	n	100 µg/ml	n
0.1 "	x' =	3.4 (0.5-28)	6	24 (5.8-75)	6
1 "		3.0 (0.5-16)	6	26 (11 -63)	6
5 "		7.1 (1.2-43)	6	25 (7 -87)	6
10 "		5.9 (0.8-42)	6	20 (5 -79)	6
20 "		5.8 (1.4-24)	6	16 (4.5-58)	6
40 "		5.4 (1.3-22)	6	13 (3.4-50)	6
66 "		4.4 (0.8-23)	6	9.5 (1.6-55)	6

c) Versuchsanordnung 3: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl (Abb. 30)

Impulse/sec		50 µg/ml	n	100 µg/ml	n
0.1 "	x' =	22 (13 -37)	6	33 (26-43)	6
1 "		22 (10 -48)	6	37 (32-43)	6
5 "		19 (13 -29)	6	32 (28-37)	6
10 "		20 (16 -24)	6	34 (32-37)	6
20 "		16 (11 -24)	6	31 (26-37)	6
40 "		12 (5.7-24)	6	26 (21-32)	6
66 "		13 (7.7-22)	6	24 (18-33)	6

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec

	25 µg/ml	n	50 µg/ml	n	100 µg/ml	n
x' =	6.9 (3.7-13)	6	17 (11-27)	6	27 (20-36)	6

e) Versuchsanordnung 5: Repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec

	100 µg/ml	n
x' =	32 (20-51)	53

f) Versuchsanordnung 6: Niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec

	100 µg/ml	n
x' =	28 (19-41)	52

g) Versuchsanordnung 7: Hochfrequente (66 Impulse/sec), supramaximale Serienreize

	100 µg/ml	n
x' =	27 (19-38)	46

4.1.2 Phenobarbital-Na

Die Wirkung von Phenobarbital-Na auf elektrisch induzierte Kontraktionen in den Versuchsanordnungen 1-7 ist in der Tabelle 4 und den Abbildungen 9-12 festgehalten.

Analog zu den Ergebnissen von Druckman und Moore (1955) erwies sich Phenobarbital-Na als relativ schwach hemmende Substanz am Meerschweinchenileum. Mit unserer maximalen Konzentration von 100 µg/ml Phenobarbital-Na konnte ein mäßiger Hemmerfolg erzielt werden (s. Abb. 30). In der Versuchsanordnung 1 (Einzelreize mit steigender Intensität) war im Durchschnitt gesehen der Hemmeffekt am geringsten, wenn auch auffällige individuelle Unterschiede auftraten, die vor allem bei Reizung mit submaximalen Spannungswerten auffielen.

Eine Korrelation zwischen der Inhibition durch Phenobarbital-Na und den Reizintensitäten oder der Reizfrequenz konnte nicht festgestellt werden (s. Tab. 4 und Abb. 9-12).

Der Hemmeffekt trat fast augenblicklich ein und erreichte sein Maximum nach 2-3 min. Er war immer reversibel.

Tab. 4: Der Einfluß von Phenobarbital-Na auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen Reizparametern. Maßeinheit: prozentuale Reduktion der Kontraktionen. $\bar{x}$: geometr. Mittel $\pm$ 1 Standardabweichung (S.D.). n: Anzahl der Einzelergebnisse

a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec

		100 µg/ml*	n
1.0 V	$\bar{x}$	5.7 (0.8-40)	8
2.0 V		6.9 (0.9-40)	8
3.0 V		6.3 (1.2-32)	8
4.0 V		7.1 (1.7-29)	8
5.0 V		7.6 (2.2-26)	8
6.0 V		6.2 (1.2-23)	8
7.0 V		5.8 (1.3-26)	8
30 V		5.5 (1.2-25)	8

*) geringere Konzentrationen blieben ohne eindeutige Hemmwirkung

(Fortsetzung Tab. 4)

b) Versuchsanordnung 2: Einzelreize bzw. Serienreize niedriger Intensität mit steigender Impulszahl

Impulse/sec		50 µg/ml	n	100 µg/ml	n
0.1 "	x' =	3.4 (0.5-28)	6	24 (5.8-75)	6
1 "		3.0 (0.5-16)	6	26 (11 -63)	6
5 "		7.1 (1.2-43)	6	25 (7 -87)	6
10 "		5.9 (0.8-42)	6	20 (5 -79)	6
20 "		5.8 (1.4-24)	6	16 (4.5-58)	6
40 "		5.4 (1.3-22)	6	13 (3.4-50)	6
66 "		4.4 (0.8-23)	6	9.5 (1.6-55)	6

c) Versuchsanordnung 3: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl (Abb. 30)

Impulse/sec		50 µg/ml	n	100 µg/ml	n
0.1 "	x' =	22 (13 -37)	6	33 (26-43)	6
1 "		22 (10 -48)	6	37 (32-43)	6
5 "		19 (13 -29)	6	32 (28-37)	6
10 "		20 (16 -24)	6	34 (32-37)	6
20 "		16 (11 -24)	6	31 (26-37)	6
40 "		12 (5.7-24)	6	26 (21-32)	6
66 "		13 (7.7-22)	6	24 (18-33)	6

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec

	25 µg/ml	n	50 µg/ml	n	100 µg/ml	n
x' =	6.9 (3.1-13)	6	17 (11-27)	6	27 (20-36)	6

e) Versuchsanordnung 5: Repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec

	100 µg/ml	n
x' =	32 (20-51)	53

f) Versuchsanordnung 6: Niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec

	100 µg/ml	n
x' =	28 (19-41)	52

g) Versuchsanordnung 7: Hochfrequente (66 Impulse/sec), supramaximale Serienreize

	100 µg/ml	n
x' =	27 (19-38)	46



Abb. 9: Reiz-Wirkungskurve für Phenobarbital-Na (100 µg/ml) bei Reizung mit Einzelreizen von steigender Intensität. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 4 zu entnehmen.

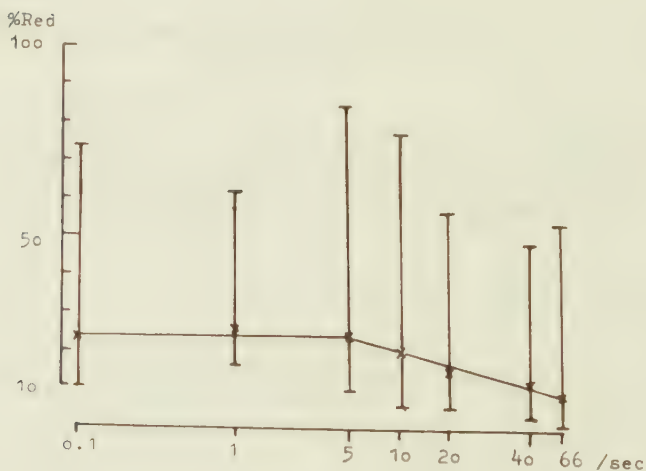


Abb. 10: Reiz-Wirkungskurve für Phenobarbital-Na (100 µg/ml) bei Reizung mit Einzel- bzw. Serienreizen geringer Intensität mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 4 zu entnehmen.

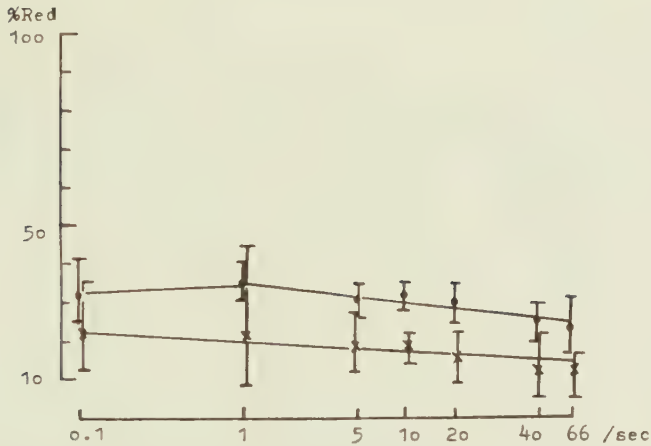


Abb. 11: Reiz-Wirkungskurve für Phenobarbital-Na bei Reizung mit supramaximalen Einzel- bzw. Serienreizen mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 4 zu entnehmen.

●---● = 100 µg/ml

x---x = 50 µg/ml

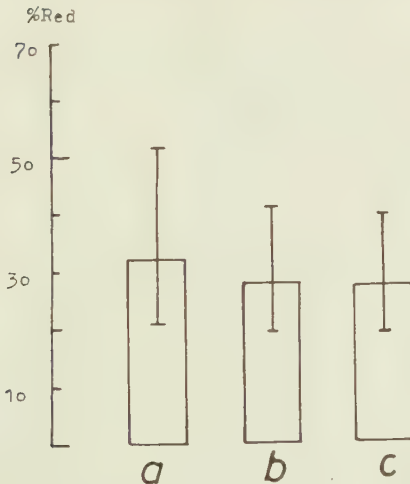


Abb. 12: Die inhibitorische Wirkung von Phenobarbital-Na (100 µg/ml) bei Reizung mit:

- a) repetitiven, submaximalen Einzelreizen alle 20 sec
- b) niedrigfrequenten (1 Impuls/sec), supramaximalen Serienreizen alle 30 sec
- c) hochfrequenten (66 Impulse/sec), supramaximalen Serienreizen alle 30 sec

Die Säulen entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 4 zu entnehmen.

4.1.3 Carbamazepin

Carbamazepin ähnelte in seiner Wirkung auf elektrisch induzierte Kontraktionen Phenytoin. 12 µg/ml wirkten mäßig depressorisch (Abb. 26), und es konnte ebenfalls eine Korrelation zwischen der Hemmstärke und der Reizintensität registriert werden. Vor allem Einzelreize mit submaximaler Spannung wurden verhältnismäßig stark reduziert, während ein frequenzabhängiger Wirkungsunterschied allenfalls andeutungsweise vorhanden war (s. Tab. 5 und Abb. 13-16).

Tab. 5: Der Einfluß von Carbamazepin auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen elektrischen Reizparametern. Die Wirkung ist in prozentualer Reduktion der Kontraktionen angegeben. Angeführt werden die geometrischen Mittelwerte ± 1 S.D. n = Anzahl der Einzelergebnisse.

a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec (Abb. 26)

	6 µg/ml	n	12 µg/ml	n
1.5 V	4.5 (0.8-26)	6	41 (25 -67)	6
2 V	11 (3.1-37)	6	23 (9.3-55)	6
3 V	6.4 (2.2-18)	6	16 (6.8-38)	6
6 V	5.4 (2 -15)	6	13 (7.7-23)	6
10 V	5 (2 -13)	6	13 (5.8-29)	6
15 V	4.8 (1.7-13)	6	13 (7.2-23)	6
20 V	3 (0.9-10)	6	11 (6.4-18)	6
30 V	3.7 (1.2-11)	6	11 (6.4-20)	6

b) Versuchsanordnung 2: Einzelreize bzw. Serienreize niedriger Intensität mit steigender Impulszahl

Impulse/sec	3 µg/ml	n	6 µg/ml	n	12 µg/ml	n
0.1 "	7.1 (2.4-21)	7	20 (11 -37)	6	31 (14 -70)	7
1 "	8.2 (2.6-26)	7	20 (9.8-43)	6	31 (12 -81)	7
5 "	9.4 (4.4-20)	7	13 (3.4-50)	6	27 (10 -71)	6
10 "	9.6 (4.9-19)	7	12 (3.9-35)	6	23 (6.5-82)	6
20 "	11 (6.6-18)	7	9.2 (2.4-36)	6	21 (7.6-58)	6
40 "	8.5 (5 -14)	7	14 (8.8-22)	6	21 (9.6-46)	6
66 "	7 (3.5-14)	7	13 (8.3-21)	6	24 (15 -38)	6

(Fortsetzung Tab. 5)

c) Versuchsanordnung 3: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl (Abb. 29)

Impulse/sec	3 µg/ml	n	6 µg/ml	n	12 µg/ml	n
0.1 "	7 (2.5-19)	7	20 (14 -28)	7	30 (23-41)	6
1 "	5.5 (1.8-18)	7	16 (9.9-24)	7	33 (26-40)	6
5 "	5.4 (2.3-12)	7	9 (4.1-20)	7	25 (19-34)	6
10 "	3 (1.3-6.8)	7	7.7 (4.3-14)	7	19 (14-27)	6
20 "	3.7 (1.3-10)	7	12 (6 -25)	7	21 (13-36)	6
40 "	6.1 (3.3-11)	7	13 (8 -21)	7	22 (11-46)	6
66 "	4.6 (2.8-7.4)	7	11 (7.3-16)	7	20 (10-42)	6

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec (Abb. 32)

3 µg/ml	n	6 µg/ml	n	12 µg/ml	n
3.2 (1.4-3.8)	6	9.9 (7.2-14)	6	26 (19-35)	6

e) Versuchsanordnung 5: Repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec

12 µg/ml	n
28 (18-44)	47

f) Versuchsanordnung 6: Niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec

12 µg/ml	n
16 (10-26)	46

g) Versuchsanordnung 7: Hochfrequente (66 Impulse/sec), supramaximale Serienreize

12 µg/ml	n
15 (9.2-25)	38

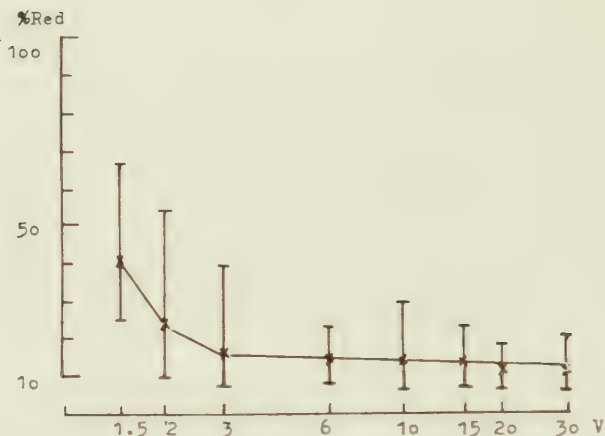


Abb. 13: Reiz-Wirkungskurve für Carbamazepin (12 µg/ml) bei Reizung mit Einzelreizen von steigender Intensität. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten $\pm$ 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 5 zu entnehmen.

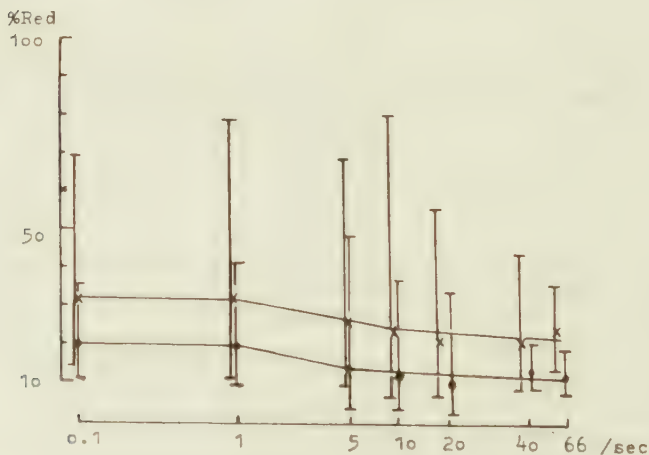


Abb. 14: Reiz-Wirkungskurve für Carbamazepin bei Reizung mit Einzel- bzw. Serienreizen geringer Intensität mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten $\pm$ 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 5 zu entnehmen.

x---x = 12 µg/ml

●---● = 6 µg/ml

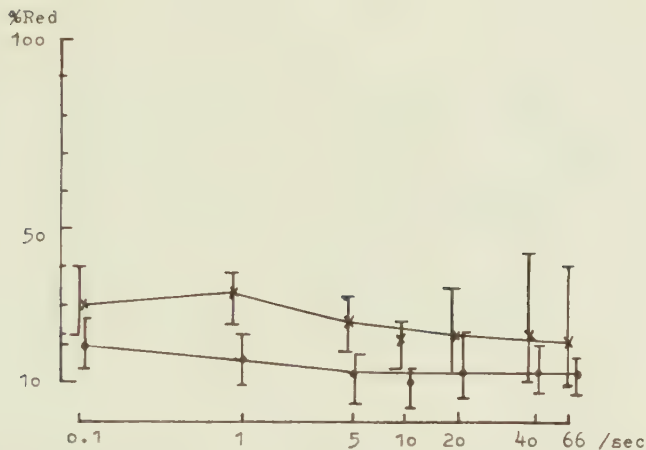


Abb. 15: Reiz-Wirkungskurve für Carbamazepin bei Reizung mit supra-maximalen Einzel- bzw. Serienreizen mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 5 zu entnehmen.

x---x = 12 µg/ml
 ●---● = 6 µg/ml

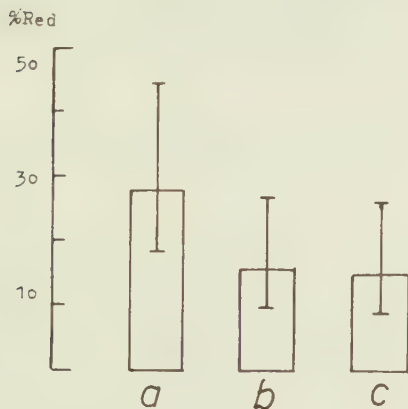


Abb. 16: Die inhibitorische Wirkung von Carbamazepin (12 µg/ml) bei Reizung mit:

- repetitiven, submaximalen Einzelreizen alle 20 sec
- niedrigfrequenten (1 Impuls/sec), supra-maximalen Serienreizen alle 30 sec
- hochfrequenten (66 Impulse/sec), supra-maximalen Serienreizen alle 30 sec

Die Säulen entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist Tab. 5 zu entnehmen.

4.1.4 Diazepam

Wie alle anderen bisher aufgeführten Antiepileptica besaß auch Diazepam eine depressive Wirkung in unseren Versuchen. Bis 2 $\mu\text{g/ml}$ war kaum eine Wirkung festzustellen; 4 $\mu\text{g/ml}$ entwickelten eine mäßig starke Inhibition (Abb. 28), die in den Versuchsanordnungen 1-3 spannungs- und frequenzunabhängig war, ähnlich Phenobarbital. Das drückte sich in dem fast waagrechten Verlauf der Reiz-Wirkungskurven aus.

In der Abbildung 20 jedoch wird eine geringe Wirkungsdifferenz zwischen dem niedrigfrequenten und hochfrequenten Reizbereich sichtbar, die statistisch abgesichert werden konnte ($p = 0.05$). Die Erhöhung der Reizfrequenz bewirkte eine Abnahme der Hemmstärke von 4 $\mu\text{g/ml}$ Diazepam, während der inhibitorische Einfluß auf submaximale Einzelreize und niedrigfrequente Reize mit supramaximaler Spannung gleich groß blieb.

Tab. 6: Der Einfluß von Diazepam auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen Reizparametern.
Maßeinheit: prozentuale Reduktion der Kontraktionen. $\bar{x}$ = geometr. Mittel $\pm$ 1 Standardabweichung.
n = Anzahl der Einzelversuche

a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec

		1 $\mu\text{g/ml}$	n	2 $\mu\text{g/ml}$	n	4 $\mu\text{g/ml}$	n
1.5 V	$\bar{x}$ =	5.3 (2.7-15)	6	15 (8.0-27)	8	19 (4.9-76)	7
2 V		6.1 (2.4-15)	7	14 (7.7-25)	9	20 (6.4-61)	10
3 V		3.7 (1.3-11)	7	13 (7.4-24)	10	26 (17 -39)	10
6 V		3.5 (1.2-10)	6	12 (7.9-19)	10	20 (11 -37)	10
10 V		3.3 (1.2- 9)	6	12 (7.3-20)	9	19 (10 -34)	10
15 V		2.8 (0.9-8.4)	6	11 (6.8-19)	8	22 (13 -35)	10
20 V		2.8 (0.9-8.4)	6	12 (7.9-18)	9	22 (13 -35)	10
30 V		2.9 (1.1-7.8)	6	12 (8.0-18)	9	21 (13 -34)	10

b) Versuchsanordnung 2: Einzelreize bzw. Serienreize niedriger Intensität mit steigender Impulszahl (Abb. 28)

Impulse/sec	1 µg/ml	n	2 µg/ml	n	4 µg/ml	n
0.1 " x' =	0.8 (0.6-8.2)	6	6.8 (1.9-25)	8	15 (8.7-27)	8
1 "	2.9 (1.3-7.1)	6	6.8 (1.8-25)	8	14 (6.4-31)	8
5 "	2.8 (0.9-8.7)	6	11 (3.1-40)	8	16 (7.4-35)	8
10 "	3.4 (1.3-9.3)	6	8.2 (2.5-27)	8	16 (6 -43)	8
20 "	6.3 (3.4-12)	6	11 (6.3-19)	8	19 (10 -36)	8
40 "	2.6 (1.2-5.9)	6	13 (7.4-21)	8	25 (15 -42)	8
66 "	3.7 (1.6-8.5)	6	13 (7.5-22)	8	28 (18 -42)	8

c) Versuchsanordnung 3: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl

Impulse/sec	1 µg/ml	n	2 µg/ml	n	4 µg/ml	n
0.1 " x' =	9.1 (2.9-28)	7	18 (9.7-34)	7	34 (20-55)	7
1 "	5.5 (1.4-21)	7	19 (8.1-43)	7	39 (28-54)	7
5 "	7.7 (4.0-15)	7	14 (6.8-30)	7	32 (23-43)	7
10 "	11 (5.5-21)	7	17 (11 -28)	7	30 (23-38)	7
20 "	12 (5.5-23)	7	20 (12 -36)	7	31 (21-46)	7
40 "	11 (6.6-19)	7	20 (12-33)	7	30 (22-42)	7
66 "	11 (6.2-21)	7	19 (12-32)	7	29 (21-38)	7

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec

	1 µg/ml	n	2 µg/ml	n	4 µg/ml	n
x' =	3.3 (1.3-8.6)	6	14 (10-20)	6	27 (20-35)	6

e) Versuchsanordnung 5: Repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec

	4 µg/ml	n
x' =	53 (38-75)	12

f) Versuchsanordnung 6: Niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec

	4 µg/ml	n
x' =	53 (31-72)	10

g) Versuchsanordnung 7: Hochfrequente (66 Impulse/sec), supramaximale Serienreize

	4 µg/ml	n
	35 (25-50)	10

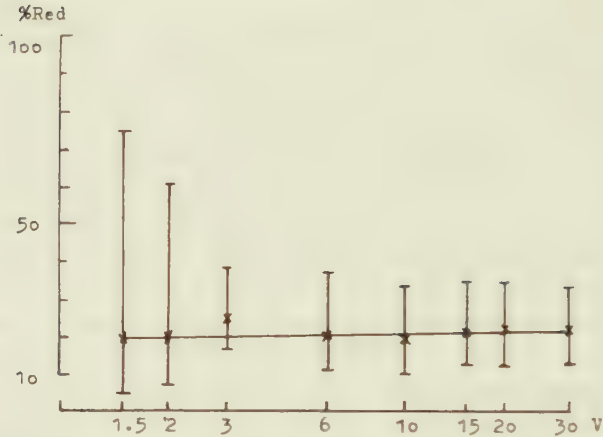


Abb. 17: Reiz-Wirkungskurve für Diazepam ($4 \mu\text{g/ml}$) bei Reizung mit Einzelreizen von steigender Intensität. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 6 zu entnehmen.

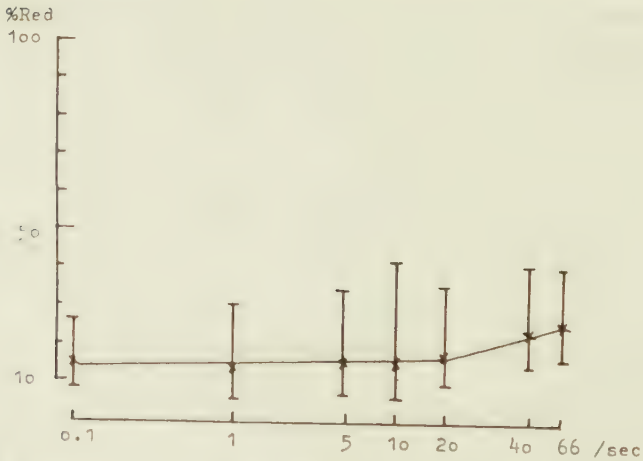


Abb. 18: Reiz-Wirkungskurve für Diazepam ($4 \mu\text{g/ml}$) bei Reizung mit Einzel- bzw. Serienreizen geringer Intensität mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 6 zu entnehmen.

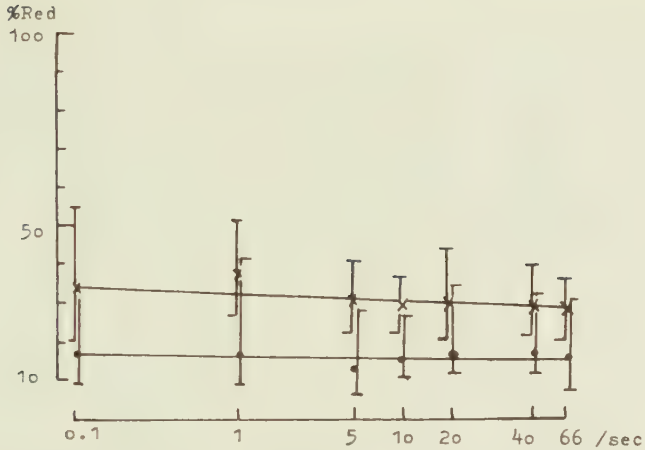


Abb. 19: Reiz-Wirkungskurve für Diazepam bei Reizung mit supramaximalen Einzel- bzw. Serienreizen mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 6 zu entnehmen.

x---x = 4 μ g/ml

•---• = 2 μ g/ml

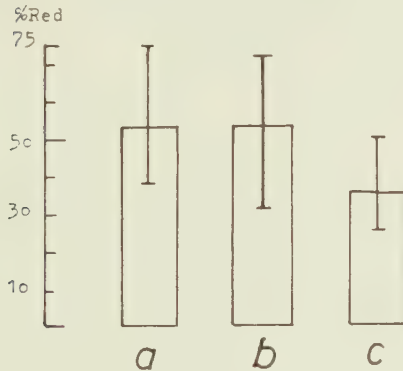


Abb. 20: Die inhibitorische Wirkung von Diazepam (4 μ g/ml) bei Reizung mit:

- a) repetitiven, submaximalen Einzelreizen alle 20 sec
- b) niedrigfrequenten (1 Impuls/sec), supramaximalen Serienreizen alle 30 sec
- c) hochfrequenten (66 Impulse/sec), supramaximalen Serienreizen alle 30 sec

Die Säulen entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 6 zu entnehmen.

4.1.5 Na-Valproat

Erst Konzentrationen von Na-Valproat, die am oberen Rand der therapeutischen Plasmakonzentration (100 µg/ml) oder darüber liegen, verursachten eine registrierbare Reduktion der Kontraktionsamplituden. Dabei hemmten 100 µg/ml nur submaximale Ausschläge merkbar, während die Reaktionen auf supramaximale Reizparameter unbeeinflusst blieben. Eine Korrelation zwischen inhibitorischer Potenz und Reizintensität war auch für die Konzentrationen 250 und 500 µg/ml gegeben, wie aus den Abbildungen 21-24 deutlich wird. Nicht allein die Spannungswerte, sondern auch die Reizfrequenzen übten einen entscheidenden Einfluß auf die Wirkungsstärke von Na-Valproat aus. Maximale Spannungen (ab 6-10 V) und frequentere Reize (ab 5 Impulsen/sec) dämpften die Effektivität deutlich (s. Tab. 7 und Abb. 22-24).

Tab. 7: Der Einfluß von Na-Valproat auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen Reizparametern.
Maßeinheit: prozentuale Reduktion der Kontraktionen
x': geometr. Mittel $\pm$ 1 Standardabweichung
n = Anzahl der Einzelergebnisse

a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec

	100 µg/ml	n	250 µg/ml	n	500 µg/ml	n
1.5 V x' =	47 (31 -72)	6	81 (62 -100)	6	98 (95-100)	6
2 V	26 (11 -65)	6	51 (27 - 95)	6	98 (95-100)	6
3 V	27 (16 -47)	6	28 (10 - 79)	6	76 (51-100)	6
6 V	16 (4 -64)	6	28 (15 - 50)	6	65 (50- 85)	6
10 V	15 (4 -61)	6	18 (4.2- 76)	6	57 (46- 71)	6
15 V	14 (3.7-52)	6	20 (6.4- 65)	6	52 (44- 63)	6
20 V	12 (3.5-40)	6	20 (6.4- 65)	6	47 (42- 53)	6
30 V	10 (3 -33)	6	20 (6.3- 63)	6	44 (38- 49)	6

(Fortsetzung Tab. 7)

b) Versuchsanordnung 2: Einzelreize bzw. Serienreize niedriger Intensität mit steigender Impulszahl

Impulse/sec	100 µg/ml	n	250 µg/ml	n	500 µg/ml	n
0.1 " x' =	21 (9.1-70)	6	51 (29 -90)	6	82 (62-100)	6
1 "	18 (11 -68)	6	47 (29 -76)	6	75 (57- 98)	6
5 "	4.6 (0.5-29)	6	30 (11 -81)	6	72 (59- 89)	6
10 "	3.4 (0.8-15)	6	20 (9 -59)	6	66 (50- 86)	6
20 "	3.6 (0.8-16)	6	22 (8.8-57)	6	59 (43- 82)	6
40 "	3.6 (1.1-12)	6	10 (1.0-37)	6	46 (29- 72)	6
66 "	5.4 (1.6-18)	6	9.8 (2.9-34)	6	48 (34- 68)	6

c) Versuchsanordnung 3: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl

Impulse/sec	100 µg/ml	n	250 µg/ml	n	500 µg/ml	n
0.1 " x' =	11 (5.0-23)	6	23 (12 -43)	6	47 (40 -55)	6
1 "	4.2 (2.0-8.9)	6	14 (9.0-22)	6	37 (31 -44)	6
5 "	2.6 (0.9-7.3)	6	10 (5.5-19)	6	22 (14 -35)	6
10 "	1.4 (0.6-3.6)	6	6.8 (0.9-19)	6	13 (4.6-36)	6
20 "	1.3 (0.7-2.2)	6	5.1 (2.2-12)	6	8.8 (2.5-31)	6
40 "	1.3 (0.7-2.2)	6	2.9 (1.1-7.9)	6	5.6 (1.5-21)	6
66 "	0	6	3.5 (1.1-11)	6	5.6 (1.5-21)	6

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec

	100 µg/ml	n	250 µg/ml	n	500 µg/ml	n
x' =	14 (5.7-34)	7	29 (20-42)	7	44 (30-64)	6

e) Versuchsanordnung 5: Repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec (Abb. 33a)

250 µg/ml	n
42 (30-60)	52

f) Versuchsanordnung 6: Niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec

250 µg/ml	n
17 (9.4-31)	54

g) Versuchsanordnung 7: Hochfrequente (66 Impulse/sec), supramaximale Serienreize

250 µg/ml	n
9.4 (4.7-19)	47

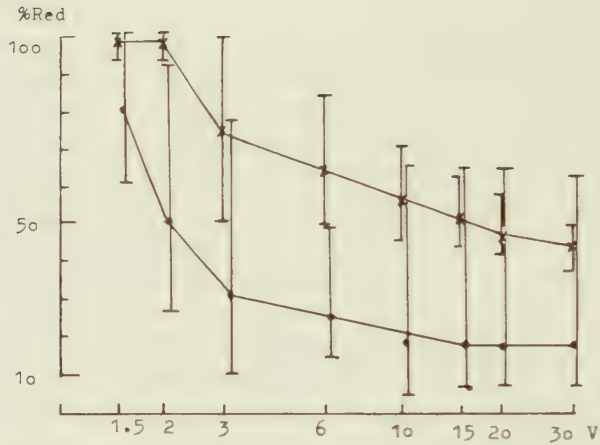


Abb. 21: Reiz-Wirkungskurve für Na-Valproat bei Reizung mit Einzelreizen von steigender Intensität. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 7 zu entnehmen.

x---x = 500 µg/ml
 ●---● = 250 µg/ml

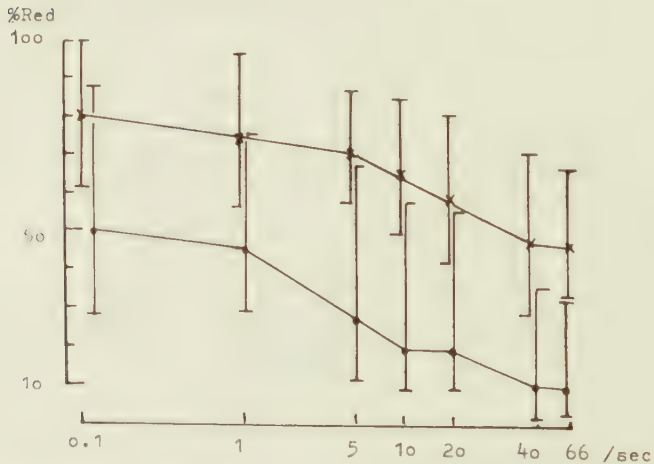


Abb. 22: Reiz-Wirkungskurve für Na-Valproat bei Reizung mit Einzel- bzw. Serienreizen geringer Intensität mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 7 zu entnehmen.

x---x = 500 µg/ml
 ●---● = 250 µg/ml

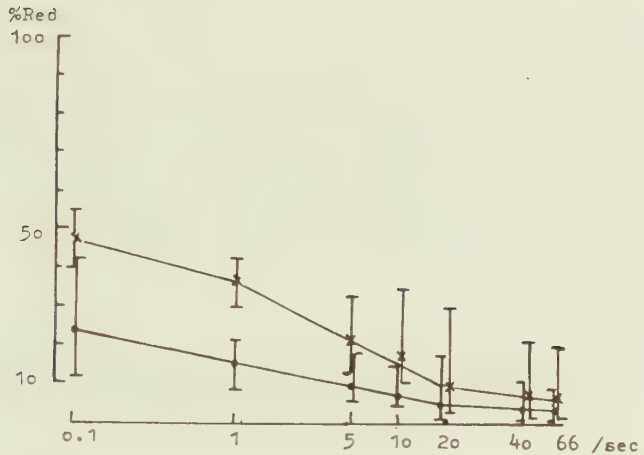


Abb. 23: Reiz-Wirkungskurve für Na-Valproat bei Reizung mit supramaximalen Einzel- bzw. Serienreizen mit steigender Impulszahl. Die aufgetragenen Werte entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist aus Tab. 7 zu entnehmen.

x---x = 500 µg/ml

●---● = 250 µg/ml

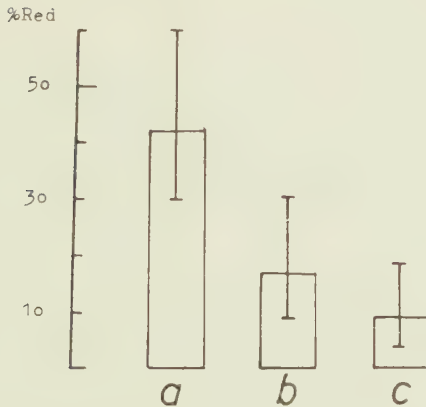


Abb. 24: Die inhibitorische Wirkung von Na-Valproat (250 µg/ml) bei Reizung mit:

- repetitiven, submaximalen Einzelreizen alle 20 sec
- niedrigfrequenten (1 Impuls/sec), supramaximalen Serienreizen alle 30 sec
- hochfrequenten (66 Impuls/sec), supramaximalen Einzelreizen alle 30 sec

Die Säulen entsprechen den geometrischen Mittelwerten ± 1 S.D. Die Anzahl der zugrundeliegenden Einzelwerte ist Tab. 7 zu entnehmen.

4.1.5 Ethosuximid

Ethosuximid erwies sich in unseren Versuchen als relativ wirkungslos. Erst eine Konzentration von 200 µg/ml Ethosuximid ließ an einigen Präparaten eine geringe Reduktion der Kontraktionsamplituden erkennen. Jedoch rund 50% der Präparate reagierten auch bei dieser Konzentration nicht auf Ethosuximid.

Tab. 8: Der Einfluß von Ethosuximid auf die Kontraktionsamplituden bei verschiedenen Reizparametern.
Maßeinheit: prozentuale Reduktion der Kontraktionen
x': geometr. Mittel $\pm$ 1 Standardabweichung
n = Anzahl der Einzelversuche

a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec

	200 µg/ml	n
1.5 V x' =	7.4 (1.8-30)	6
2 V	3.5 (1.0-12)	6
3 V	5.3 (1.9-15)	6
6 V	5.1 (1.4-19)	6
10 V	4.0 (1.1-15)	6
15 V	4.3 (1.2-16)	6
20 V	5.0 (1.7-15)	6
30 V	3.9 (1.1-13)	6

b) Versuchsanordnung 2: Einzelreize bzw. Serienreize niedriger Intensität mit steigender Impulszahl

Impulse/sec	200 µg/ml	n
0.1 " x' =	5.6 (0.8-40)	6
1 "	3.8 (0.8-19)	6
5 "	1.8 (0.7- 5.0)	6
10 "	3.9 (1.3-12)	6
20 "	1.6 (0.8- 3.6)	6
40 "	1.9 (0.6- 5.7)	6
66 "	1.3 (0.8- 2.2)	6

(Fortsetzung Tab. 8)

c) Versuchsanordnung 3: Supramaximale Einzel- bzw. Serienreize mit steigender Impulszahl

Impulse/sec	200 µg/ml	n
0.1 " x' =	13 (3.4-53)	6
1 "	17 (6.8-43)	6
5 "	16 (7.6-32)	6
10 "	16 (8.7-28)	6
20 "	12 (6.8-22)	6
40 "	9.8 (6.5-15)	6
66 "	7.4 (4.5-12)	6

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec

	100 µg/ml	n	200 µg/ml	n
x' =	5.1 (1.7-15)	6	13 (3.7-45)	6

In den Versuchsanordnungen 5-7 wurde Ethosuximid nicht geprüft.

4.2 Die Eigenwirkung der Antagonisten

Die Wirkungen der Antagonisten in den drei Reizanordnungen des zweiten Versuchsabschnitts sind auf S. 108 tabellarisch dargestellt. Da nur inhibitorische Effekte festgestellt wurden, beziehen sich die Zahlenangaben auf die Maßeinheit prozentuale Reduktion der Kontraktionsamplituden. x' = geometrisches Mittel $\pm$ 1 S.D. n = Anzahl der Einzelergebnisse.

Die Ergebnisse zeigen, daß Atropin und Tetrodotoxin bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen und mit niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen die Kontraktionen vollständig unterdrückten. Die Kontraktionen nach der Stimulation mit hochfrequenten, supramaximalen Serienreizen wurden durch die beiden Stoffe zu 50% antagonisiert.

Tab. 9: Die Eigenwirkung der Antagonisten

Reizanordnungen: repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), supramaximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec), supramaximale Serien- reize alle 30 sec	
x'	n	x'	n	x'	n
Atropinsulfat 1 µg/ml	100	100	6	46 (35 -61)	25
Tetrodotoxin 0.03 µg/ml	100	100	6	41 (31 -55)	17
Hexamethonium HCl 30 µg/ml	16 (5.2-47)	18 (12 -27)	18	3.0 (1 -9.2)	20
Cyproheptadin HCl 0.01 µg/ml	71 (59 -86)	29 (18 -47)	18	25 (17 -37)	17
Pyribenzamin HCl 0.03 µg/ml	9.5 (3.0-30)	16 (8.9-30)	20	6.5 (2.3-19)	17
Bicucullin 10 µg/ml	5.7 (2.4-13)	13 (6.5-27)	24	14 (6.3-31)	21
Picrotoxin 10 µg/ml	keine Eigenwirkung				
Phentolamin 0.3 µg/ml	keine Eigenwirkung				
Propanolol HCl 0.3 µg/ml	keine Eigenwirkung				
Guanethidin Vorbehandlung mit 20 mg/kg (s.auch S. 79)	keine Eigenwirkung im Vergleich zu Präparaten von unbehandelten Versuchstieren				

Eine starke inhibitorische Potenz neben diesen Substanzen entwickelte noch Cyproheptadin im Bereich der repetitiven, submaximalen Einzelreize.

Die anderen wirksamen Antagonisten zeigten eine mehr oder minder schwache Hemmwirkung, wobei jedoch individuelle Schwankungen zu vermerken waren.

Die Inhibition durch Hexamethonium beschränkte sich auf die Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen und mit niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen, während im hochfrequenten Bereich eine Eigenwirkung kaum nachweisbar war. Pyribenzamin hemmte in allen drei Reizbereichen schwach. Bicucullin reduzierte bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen die Kontraktionsamplituden nur gering. Etwas ausgeprägter war die Hemmwirkung von Bicucullin in den Reizbereichen mit niedrig- und hochfrequenten, supramaximalen Serienreizen.

Picrotoxin, Phentolamin, Propanolol und Guanethidin wiesen in unseren Versuchen keine Eigenwirkung auf.

4.3. Die Beeinflussung der Wirkung der Antikonvulsiva durch die Antagonisten

4.3.1 Phenytoin

Nur Guanethidin reduzierte signifikant in allen drei Versuchsanordnungen (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize; hochfrequente, supramaximale Serienreize) die Hemmung durch Phenytoin.

Einen starken antagonistischen Effekt entwickelte Tetrodotoxin gegenüber der Phenytoin-Wirkung bei Reizung mit hochfrequenten, supramaximalen Serienreizen. Nach 0.07 µg/ml Tetrodotoxin entwickelte Phenytoin nur noch rund 1/3 seiner ursprünglichen Hemmwirkung (s. Tab. 10). Mit submaximalen Konzentrationen von Tetrodotoxin (0.003-0.012 µg/ml) wurde dagegen bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen und niedrigfrequenten, supramaximalen

Serienreizen die inhibitorische Wirkung von Phenytoin verstärkt.

Ein statistisch abgesicherter Antagonismus gegenüber der Phenytoin-Wirkung wurde weiter nur noch mit Bicucullin bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen registriert (Abb. 34).

Phentolamin, Propanolol, Cyproheptadin, Pyribenzamin, Atropin, Hexamethonium und Picrotoxin zeigten keinen signifikanten Einfluß auf die Wirkung von Phenytoin.

Tab. 10: Die Wechselbeziehungen von Phenytoin mit verschiedenen Antagonisten. Gegenübergestellt werden die absolute und relative Hemmwirkung als prozentuale Reduktion der Kontraktionsamplituden. Die absolute Hemmwirkung gibt den Effekt von Phenytoin ohne Beeinflussung durch die Antagonisten wider, die relative Hemmung ist die Wirkung von Phenytoin mit Einfluß der Antagonisten. Das bedeutet, daß bei der relativen Hemmwirkung als Bezugswerte die Kontraktionsamplituden herangezogen wurden, die sich nach Zugabe der Antagonisten ergaben (Auswertung s.S. 80). Angeführt werden die geometrischen Mittelwerte $\pm$ 1 S.D. n = Anzahl der Einzelergebnisse. Phenytoin-Konzentration 10 $\mu\text{g/ml}$ (20 $\mu\text{g/ml}$). $p = 0.05$ ist die Signifikanzgrenze.

		Reizanordnungen: repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen in Abständen von 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec	
		mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
Guanethidin	n	51 (44-59)	69 (55-88)	23 (17-33)	44 (37-60)	22 (17-29)	37 (25-55)
	p	6	49	6	46	6	36
			<0.05		=0.05		=0.05
Tetrodotoxin	n	*85 (75-97)	70 (56-83)	*65 (56-75)	41 (33-51)	**13 (7.9-23)	38 (26-56)
		6	6	11	9	7	7
			=0.05		<0.05		<0.05
Bicucullin	n	32 (26-41)	53 (46-60)	35 (27-46)	34 (22-53)	21 (15-29)	22 (13-37)
	p	6	6	6	6	6	6
			<0.05				
Picrotoxin	n	73 (66-80)	73 (68-79)	38 (26-56)	48 (39-60)	34 (29-40)	34 (31-38)
	p	4	4	4	4	4	4
					N.S.		
Pyribenzamin	n	87 (82-91)	70 (56-89)	55 (50-60)	50 (42-60)	40 (32-49)	40 (31-53)
	p	6	6	6	6	6	6
			N.S.				
Phentolamin	n	59 (43-81)	71 (57-89)	45 (38-54)	43 (36-52)	56 (38-85)	59 (39-91)
	p	10	8	6	6	4	4
			N.S.				

*) Tetrodotoxin 0,003-0,012 $\mu\text{g/ml}$; **) Tetrodotoxin 0,07 $\mu\text{g/ml}$

(Fortsetzung Tab. 10)

		Reizantworten: relative, submaximale Reaktion mit Einzelreizen in Abständen von 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec	
		mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
Propanolol	n	81 (73-90)	82 (69-99)	51 (47-54)	47 (39-56)	38 (35-43)	32 (28-35)
	p	4	4	4	4	4	4
Cyproheptadin	n	62 (47-69)	69 (51-72)	84 (76-92)	82 (73-89)	"62 (53-65)	"59 (58-60)
	p	4	4	4	4	4	4
Atropinsulfat	n	*87 (75-100)	83 (72-97)	*67 (56-79)	69 (58-81)	**62 (52-79)	"61 (51-73)
	p	9	6	7	6	10	8
Hexamethonium	n	55 (42-71)	59 (47-75)	42 (32-56)	47 (40-56)	35 (20-78)	41 (35-49)
	p	6	6	4	4	7	6

*) Atropinsulfat 0,001-0,002 µg/ml; **) Atropinsulfat 1 µg/ml
 ") Phenytoin-Konzentration 20 µg/ml

4.3.2 Phenobarbital-Na

Eine signifikante Wechselbeziehung mit einem der hier verwendeten Antagonisten, ob antagonistisch oder synergistisch, konnte in keinem Fall nachgewiesen werden.

Tab. 11: Die Wechselbeziehungen von Phenobarbital-Na mit verschiedenen Antagonisten. Gegenüber-
gestellt werden die absolute und relative Hemmwirkung als prozentuale Reduktion der
Kontraktionsamplituden. Die absolute Hemmwirkung gibt den Effekt von Phenobarbital-Na
ohne Beeinflussung durch die Antagonisten wieder, die relative Hemmung ist die
Wirkung von Phenobarbital-Na mit Einfluß der Antagonisten. Das bedeutet, daß bei
der relativen Hemmwirkung als Bezugsgröße die Kontraktionsamplituden herangezogen
werden, die sich nach Zugabe der Antagonisten ergaben (Auswertung S.S. 80). Angeführt
werden die geometrischen Mittelwerte $\pm$ 1 S.D. n = Anzahl der Einzelergebnisse. Pheno-
barbital-Na-Konzentration 160 μ g/ml. p = 0.05 ist die Signifikanzgrenze.

Reizantagonisten: relative, maximale Reiz- zung mit Einzelreizen in Ab- ständen von 20 sec	niedrigfrequente (1/sec., su- pramaximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec., su- pramaximale Serienreize alle 30 sec	
	mit	ohne	mit	ohne
Phentolamin				
x'	46 (37-57)	48 (42-53)	35 (27-46)	31 (25-40)
n	6	6	6	6
Propanolol				
x'	42 (29-56)	44 (37-53)	26 (20-33)	23 (20-26)
n	4	4	4	4
Cyproheptadin				
x'	44 (33-59)	48 (32-72)	26 (23-29)	20 (20-21)
n	4	4	4	4
Picrotoxin				
x'	24 (20-29)	23 (19-26)	22 (17-30)	24 (18-31)
n	6	6	6	6
Bicucullin				
x'	16 (11-24)	24 (16-38)	27 (23-31)	29 (28-38)
n	8	8	6	6
p	N.S.			
Pyribenzamin				
x'	45 (32-61)	39 (29-52)	46 (41-51)	41 (36-48)
n	6	6	6	6
p	N.S.			
			30 (27-34)	24 (23-25)
			4	4

(Fortsetzung Tab. 11)

Reizanordnungen: repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen in Abständen von 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec	
mit		mit		mit	
ohne		ohne		ohne	
Hexamethonium					
x'	19 (12-31)	24 (14-41)	16 (9,7-46)	27 (17-42)	22 (18-47)
n	8	8	7	9	9
Guanethidin					
x'	25 (11-36)	32 (20-51)	22 (13-34)	20 (17-24)	27 (19-38)
n	6	53	6	6	46
Atropinsulfat					
x'	* 51 (40-63)	40 (29-54)	* 53 (43-65)	** 30 (22-42)	27 (19-38)
n	8	8	6	12	46
p		N.S.			
Tetrodotoxin					
x'	+29 (16-52)	+30 (16-54)	+30 (19-45)	++ 12 (6,7-22)	19 (13-29)
n	6	6	4	8	8
p					

*) Atropinsulfat 0,001-0,002 µg/ml; **) Atropinsulfat 1 µg/ml
 +) Tetrodotoxin 0,003-0,01 µg/ml; ++) Tetrodotoxin 0,07 µg/ml

4.3.3 Carbamazepin

Tetrodotoxin antagonisierte die Hemmung durch Carbamazepin bei Reizung mit hochfrequenten, supramaximalen Serienreizen beträchtlich (s. Tab. 12, Spalte 3). Wie bei Phenytoin verstärkten dagegen submaximale Konzentrationen von Tetrodotoxin die Inhibition in den Versuchsanordnungen mit submaximalen, repetitiven Einzel- und niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen.

Vergleichbar mit Phenytoin ist auch der Einfluß von Bicucullin auf die Wirkung von Carbamazepin. Bicucullin antagonisierte die Inhibition durch Carbamazepin in der Versuchsanordnung 5 (repetitive, submaximale Einzelreize in Abständen von 20 sec).

Hexamethonium schwächte signifikant die Hemmwirkung von Carbamazepin ab bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen und niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen (Abb. 35).

Submaximale Konzentrationen von Atropin verstärkten ähnlich wie die submaximalen Konzentrationen von Tetrodotoxin die Hemmung durch Carbamazepin in den Versuchsanordnungen 5 und 6 (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize).

Guanethidin, Phentolamin, Propanolol, Cyproheptadin, Pyribenzamin und Picrotoxin hatten in unseren Versuchen keinen Einfluß.

Tab. 12:

Die Wechselbeziehungen von Carbamazepin mit verschiedenen Antagonisten. Gegenübergestellt werden die absolute und relative Hemmwirkung als prozentuale Reduktion der Kontraktionsamplituden. Die absolute Hemmwirkung gibt den Effekt von Carbamazepin ohne Beeinflussung durch die Antagonisten wieder, die relative Hemmung ist die Wirkung von Carbamazepin mit Einfluß der Antagonisten. Das bedeutet, daß bei der relativen Hemmwirkung als Bezugswerte die Kontraktionsamplituden herangezogen wurden, die sich nach Zugabe der Antagonisten eraben (Auswertung s.S. 80). Angeführt werden die geometrischen Mittelwerte $\pm$ 1 S.D. n = Anzahl der Einzelergebnisse. Carbamazepin-Konzentration 12 μ g/ml. p = 0.05 ist die Signifikanzgrenze

		Reizanordnungen: repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen in Abständen von 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec	
		mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
Hexamethonium		17 (10-26)	31 (18-53)	5.4 (1.6-19)	17 (12-25)	19 (13-27)	16 (8-38)
n		10	10	7	5	9	7
p			=0.05		=0.05		
Propanolol		48 (42-56)	43 (34-54)	18 (14-22)	15 (13-18)	18 (11-29)	17 (12-24)
n		4	4	4	4	4	4
p							
Phentolamin		28 (23-35)	28 (21-36)	20 (17-23)	20 (16-25)	20 (17-23)	18 (17-19)
n		6	6	6	6	6	6
p							
Cyproheptadin		28 (25-32)	27 (23-32)	25 (17-38)	27 (25-29)	17 (11-26)	13 (10-16)
n		4	4	6	5	4	4
p							
Picrotoxin		17 (8.5-34)	19 (10-36)	12 (5.1-26)	14 (8.1-24)	17 (12-25)	17 (12-23)
n		6	6	4	4	4	4
p							
Guanethidin		22 (12-40)	28 (18-44)	13 (10-18)	16 (10-26)	15 (12-19)	15 (9.2-25)
n		6	47	6	46	6	38
p							
Pyribenzamin		38 (26-57)	35 (23-52)	33 (28-37)	27 (20-36)	20 (15-26)	13 (9-18)
n		6	6	4	4	4	4
p							

4.3.4 Diazepam

Wie auf S. 79 erwähnt, wurde nur der Einfluß von Tetrodotoxin auf die Wirkung von Diazepam untersucht.

Eine geringe, aber signifikante Wirkungsabschwächung durch Tetrodotoxin war bei Reizung mit hochfrequenten, supramaximalen Serienreizen zu registrieren. Die Mittelwertdifferenzen in den Versuchsanordnungen 5 und 6 (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize) waren nicht signifikant.

Tab. 13: Der Einfluß von Tetrodotoxin auf den Hemmeffekt von Diazepam ($4 \mu\text{g/ml}$) am elektrisch stimulierten Meerschweinchenileum. Gegenübergestellt werden die relative und absolute Hemmwirkung von Diazepam (in prozentualer Reduktion der Kontraktionsamplituden) in drei Versuchsanordnungen. x' = geometr. Mittel $\pm$ 1 S.D.; n = Anzahl der Einzelergebnisse; p = Signifikanzwert; mit = Wirkung von Diazepam nach Zugabe von Tetrodotoxin (relative Hemmwirkung); ohne = Diazepam-Wirkung ohne Tetrodotoxin (absolute Hemmwirkung).

	niedrigfrequente (1/sec), submaximale Serienreize in Abständen von 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), submaximale Serienreize in Abständen von 30 sec		hochfrequente (66/sec), submaximale Serienreize in Abständen von 30 sec	
	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
Tetrodotoxin						
x'	*62 (41-83)	53 (38-75)	*57 (44-73)	53 (31-72)	**21 (17-27)	35 (25-50)
n	10	12	9	12	9	10
p		N.S.		N.S.		=0.05

*) 0,003-0,012 $\mu\text{g/ml}$; **) 0,07 $\mu\text{g/ml}$

4.3.5 Na-Valproat

Mit keinem der verwendeten Antagonisten konnte eine Wirkungsabschwächung von Na-Valproat in unseren Versuchen nachgewiesen werden. Kritisch dazu anzumerken ist, daß die Hemmung durch Na-Valproat bei Reizung mit hochfrequenten, supramaximalen Serienreizen sehr gering ausfiel, so daß eine zusätzliche Wirkungsabschwächung kaum registrierbar war. Jedoch auch in den Versuchsanordnungen 5 und 6 (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize) zeigte kein Stoff antagonistische Effekte.

Bicucullin und Atropin verstärkten signifikant bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen die Reduktion der Kontraktionsamplituden durch Na-Valproat (Abb. 33b). Das gleiche gilt für Cyproheptadin und wiederum Atropin bei elektrischer Reizung der Darmstücke mit niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen.

Guanethidin, Phentolamin, Propanolol, Picrotoxin, Hexamethonium, Pyribenzamin und Tetrodotoxin übten in unseren Versuchen keinen Einfluß aus.

Tab. 14: Die Wechselbeziehungen von Na-Valproat mit verschiedenen Antagonisten. Gegenübergestellt werden die absolute und relative Hemmwirkung als prozentuale Reduktion der Kontraktionsamplituden. Die absolute Hemmwirkung gibt den Effekt von Na-Valproat ohne Beeinflussung durch die Antagonisten wieder, die relative Hemmung ist die Wirkung von Na-Valproat mit Einfluß der Antagonisten. Das bedeutet, daß bei der relativen Hemmwirkung als Bezugswerte die Kontraktionsamplituden herangezogen wurden, die sich nach Zugabe der Antagonisten ergaben (Auswertung s.S.80). An derart werden die geometrischen Mittelwerte ± 1 S.D. n = Anzahl der Einzel-ergebnisse. Na-Valproat-Konzentration 250 μ g/ml. $p = 0.05$ ist die Signifikanzgrenze.

Reizanordnungen:	repetitive, sukzessive, maximale Pe- lung mit Einzelreizen in Ab- ständen von 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), su- kzessive, maximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec), su- kzessive, maximale Serienreize alle 30 sec	
	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
Arropinsulfat						
x'	*53 (41-69)	36 (30-43)	*32 (24-42)	19 (15-25)	**2.4 (0.7-7.9)	9.4 (4.7-19)
n	8	8	8	6	12	48
p	<0,05		=0.05			N.S.
Bicucullin						
x'	64 (48-86)	48 (34-68)	21 (14-31)	19 (13-26)	7.9 (6.7-9.4)	6 (5.2-7.7)
n	6	6	6	6	6	6
p	=0.05					
Cyproheptadin						
x'	71 (59-86)	72 (59-86)	38 (27-53)	20 (13-32)	18 (14-22)	14 (9.1-20)
n	4	4	6	6	6	6
p			=0.05			
Phentolamin						
x'	42 (30-58)	43 (28-67)	19 (16-23)	19 (15-23)	11 (10-13)	10 (9.8-11)
n	6	6	6	6	4	4
Propanolol						
x'	46 (36-59)	41 (35-49)	16 (12-22)	16 (8.7-28)	9.3 (7.5-12)	10 (8.1-12)
n	4	4	4	4	4	4

*) 0,001-0,002 $\mu\text{g}/\text{mL}$; **) 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$

(Fortsetzung Tab. 14)

		Reizanordnungen: repetitive, submaximale Reizung mit Einzelreizen in Abständen von 20 sec		niedrigfrequente (1/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec		hochfrequente (66/sec), submaximale Serienreize alle 30 sec	
		mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
Guanethidin	x'	41 (27-62)	42 (30-60)	11 (7.3-16)	17 (9.4-31)	5.1 (3.7-8.6)	9.4 (4-19)
	n	6	52	6	54	6	47
Hexamethonium	x'	41 (27-63)	44 (32-61)	20 (11-36)	20 (9.9-40)	12 (6.1-22)	10 (5.3-19)
	n	6	6	6	6	6	6
Picrotoxin	x	34 (25-47)	35 (23-54)	12 (8.8-18)	13 (11-16)	10 (7.5-13)	9.8 (6.1-16)
	n	6	6	6	6	6	6
Pyribenzamin	x'	47 (38-58)	39 (26-52)	34 (27-42)	39 (24-63)	9.8 (8.1-11)	6 (3.9-9.3)
	n	8	8	6	6	6	6
Tetrodotoxin	x'	*40 (29-55)	36 (27-47)	*20 (11-36)	13 (7.7-23)	**7.2 (5.9-9.4)	4.6 (2.9-7)
	n	6	6	6	6	6	6

*) 0,003-0,012 µg/ml; **) 0,07 µg/ml

4.4 Die Wirkung von Glycofurol in den Versuchsanordnungen 1 und 4

Das getestete Volumen entsprach in etwa 25 μ l Glucofurol pro ml Badeflüssigkeit; eine Menge, die bei 2 μ g/ml Phenhydantol® mit verabreicht wird. Die Ergebnisse zeigten, daß Glycofurol selbst stark hemmend wirkt (s. Tab. 15).

Tab. 15: Der Einfluß von 25 μ l/ml Glycofurol auf die Kontraktionsamplituden elektrisch stimulierter Meerschweinchenileumstücke.
 x' = geometr. Mittel $\pm$ 1 S.D. n = Anzahl der Einzelergebnisse. Maßeinheit = prozentuale Reduktion der Kontraktionsamplituden

a) Versuchsanordnung 1: Einzelreize mit steigender Intensität in Abständen von 10 sec

1.5 V	$x' =$	65 (63-70)	%Red	n = 2
2 V		63 (59-69)		2
3 V		59 (58-60)		2
6 V		52 (46-59)		2
10 V		50 (49-51)		2
15 V		49 (48-50)		2
20 V		50 (48-53)		2
30 V		47 (39-55)		2

d) Versuchsanordnung 4: Repetitive, supramaximale Reizung mit Einzelreizen alle 5 sec

$x' =$	73 (69-79)	%Red	n = 2
--------	------------	------	-------

5. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung sechs gebräuchlicher Antiepileptica an elektrisch stimulierten Ileumstücken vom Meerschweinchen untersucht. Durch Variation der Reizintensität und der Reizfrequenz sollten selektiv unterschiedliche Nervenfasern und letztlich die glatte Muskulatur direkt erregt werden, um eine eventuell veränderte Wirkung der Antiepileptica bei verschiedenen Reizparametern aufzufinden.

Da eine Deutung der Effekte der Antiepileptica allein nach ihrem Verhalten in den verschiedenen Versuchsanordnungen unbefriedigend bleiben muß aufgrund der noch geringen Erkenntnisse auf dem Gebiet der Charakterisierung der elektrischen Reizantworten, wurde der Versuch unternommen, durch Verwendung von bekannten Antagonisten den pharmakologischen Angriffspunkt der Antiepileptica näher zu umreissen.

Daß es bei der relativen Komplexität dieses Nerv-Muskel-Präparates schwierig ist, eindeutige Aussagen zu machen, soll der Besprechung der Ergebnisse vorausgeschickt werden. Diese Arbeit soll auch so gesehen Anregungen für weitere Forschungen mit diesem Versuchsmodell geben.

Nach Untersuchungen von Paton (1955), Kern und Lembeck (1959) und Harry (1962) werden mit kurzen (bis 1 msec), supramaximalen Einzelreizen vorwiegend postganglionäre cholinerge Nervenfasern erregt. Bei elektrischer Reizung mit repetitiven oder frequenteren Impulsen werden nach den Befunden von Schaumann (1956), Härtfelder et al. (1958) und Kern und Lembeck (1959) neben post- auch präganglionäre Nervenfasern aktiviert, was ebenfalls für submaximale Reize gelten soll (Schaumann, 1956). So konnte bei Reizfrequenzen über 2 Impulsen/sec die Erregung noradrenerger Nervenendigungen, die Freisetzung von Prostaglandin-ähnlichem Material und Enkephalin nachgewiesen werden (Sanger und Bennet, 1982).

Eine direkte Stimulation der glatten Muskulatur scheint bei Reizbreiten ab 1 msec, hohen Spannungswerten und bei Reizfrequenzen über 2 Impulsen/sec aufzutreten, da die Kontraktionen, die mit solchen Reizgrößen ausgelöst wurden, zu einem gewissen Teil Tetrodotoxin-resistent sind (Bennet und Stockley, 1973 und 1974; Sanger und Bennet, 1982).

Eine Betrachtung unserer Ergebnisse betreffend des Einflusses der Antagonisten in den Versuchsanordnungen 5-7 (Reizparameter s.S. 77-78) ergibt ähnliche Erkenntnisse.

Mit Tetrodotoxin und Atropinsulfat konnten durch repetitive, submaximale Einzelreize und niedrigfrequente (1 Impuls/sec), supramaximale Serienreize ausgelöste Kontraktionen zu 100% unterdrückt werden. Das spricht für eine ausschließliche Aktivierung nervaler Strukturen, aus denen Ach freigesetzt wird.

Da mit Hexamethonium bei diesen Reizparametern ein antagonistischer Effekt erzielt werden konnte, scheinen außer post- auch präganglionäre Nervenfasern erregt zu werden (s. Abb. 35).

Der ausgeprägte antagonistische Effekt von Cyproheptadin, vor allem bei der Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen, könnte eine Beteiligung von 5-HT bei der Auslösung der Kontraktionen vermuten lassen. Es ist dazu hin bekannt, daß 5-HT im myenterischen Plexus die Ach-Freisetzung stimuliert (Kilbinger und Weihrauch, 1982). Eine Blockade nervöser 5-HT-Rezeptoren und damit zusammenhängend eine Reduzierung der Ach-Abgabe könnte die Inhibition durch Cyproheptadin erklären. Cyproheptadin weist aber neben antiserotonergen auch antihistaminerge Eigenschaften auf (Stone et al., 1961). Histamin wirkt wie Ach direkt erregend auf die glatte Muskulatur. Auch von Cyproheptadin gibt es Berichte über eine direkte Aktion an glatten Muskelzellen. Nach Lowe et al. (1981) besitzt Cyproheptadin Ca^{++} -antagonistische Effekte, die die Kontraktionsfähigkeit und die Erregbarkeit glatter Muskelzellen beein-

trächtigen. Der von Lowe beschriebene Ca^{++} -antagonistische Effekt würde ebenfalls die beobachtete Inhibition bedingen können, und zwar unabhängig von 5-HT-Rezeptoren, da in eigenen Versuchen Cyproheptadin HCl (0.01-0.05 $\mu\text{g/ml}$) keine antagonistischen Wirkungen gegenüber 5-HT induzierten Kontraktionen zeigte. Die Unklarheit über den Wirkungsmechanismus von Cyproheptadin am Darm läßt eine eindeutige Aussage, die eine Beteiligung von 5-HT bei elektrisch induzierten Kontraktionen betrifft, nicht zu.

Da die Wirkung von Pyribenzamin in den drei Versuchsanordnungen 5-7 (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize und hochfrequente, supramaximale Serienreize) gleich und sehr schwach ist, nehmen wir einen unspezifischen Effekt dieser Substanz an.

Die geringe inhibitorische Wirkung von Bicucullin bei Reizung mit niedrig- und hochfrequenten, supramaximalen Reizen könnte ein Hinweis auf excitatorische Einflüsse GABA-erger Mechanismen sein. Auf diesem Gebiet sind jedoch noch intensive Forschungsarbeiten nötig. Es drängt sich hier die Frage auf, weshalb nur mit Bicucullin und nicht mit Picrotoxin Eigeneffekte erzielt werden konnten.

Die Kontraktionen nach Reizung mit supramaximalen, hochfrequenten Serienreizen sind nur noch zu knapp 50% auf eine Nervenstimulation zurückzuführen. Dieser Anteil konnte mit Tetrodotoxin und Atropinsulfat ausgeschaltet werden. Das bedeutet andererseits, daß hier zu einem großen Maß die Kontraktionen durch eine direkte Stimulation der Muskulatur bewirkt werden.

Zusammenfassend läßt sich zur Methodik sagen, daß - übereinstimmend mit der Literatur - die durch kurze Einzelreize und niedrigfrequente Serienreize bedingten Kontraktionen beim Meerschweinchenileum auf Nervenstimulierung zurückzuführen sind. Die Kontraktionen der longitudinalen Muskulatur sind dabei vorwiegend cholinerg bestimmt. Bei submaximaler und niedrigfrequenter Reizung werden neben post- auch präganglionäre Nervenfasern miterregt. Hoch-

frequente Serienreize stimulieren die glatte Muskulatur direkt.

Im folgenden sollen die Gesichtspunkte, ob die Antiepileptica nerval oder musculotrop, prä- oder postganglionär angreifen, wie die Antagonisten die Antikonvulsiva-Wirkung beeinflussen und ob Parallelen zu zentralen Wirkungsmechanismen zu erkennen sind, für die einzelnen Stoffe erörtert werden.

In unserer Untersuchung der Eigenwirkungen der Antiepileptica konnten ausschließlich inhibitorische Wirkungsqualitäten nachgewiesen werden. Excitatorische Eigenschaften, die sich in einer Potenzierung der Kontraktionen hätten ausdrücken können, wurden in keinem Versuch festgestellt, auch nicht bei kleinen Konzentrationen von Phenytoin (1 µg/ml), die nach Woodbury und Kemp (1970) noch erregend wirken durch die Freisetzung von Ach.

Die Hemmwirkung von Phenytoin war, verglichen mit den anderen Antiepileptica in bezug zu den therapeutischen Plasmaspiegeln (s. Tab. 1), recht ausgeprägt. 20 µg/ml unterdrückten so z.B. die Kontraktionen nach submaximalen und niedrigfrequenten Reizen vollständig (s. Abb 5 und 6).

Die durch supramaximale, hochfrequente Serienreize bedingten Kontraktionen dagegen wurden nur zu 30% antagonisiert. Insgesamt fiel die Abhängigkeit der Wirkungsstärke von Phenytoin zur Reizintensität bzw. Reizfrequenz auf. Die Reizantworten submaximaler Einzelreize und niedrigfrequenten Serienreize wurden stärker reduziert als die supramaximaler Reizintensität und hochfrequenter Reize.

Da bei den Reizparametern, wo Phenytoin am stärksten hemmte, die Kontraktionen auf eine reine Stimulierung der Nerven zurückgeführt werden kann, lassen die Ergebnisse vermuten, daß Phenytoin die nervöse Erregungsübertragung beeinträchtigt. Dafür sprechen weiter die Resultate der Versuche mit maximalen Konzentrationen von Tetrodotoxin in der Versuchsanordnung 7 (hochfrequente, supramaximale Serienreize in Abständen von 30 sec). Mit Tetrodotoxin wurde

der nervös bedingte Anteil der Kontraktionen (rund 50% der Kontraktionsamplitude; s. auch S. 127) ausgeschaltet. Die verbleibenden, durch direkte Stimulation der Muskulatur erzeugten Reizantworten reagierten unempfindlicher gegenüber Phenytoin als die durch Nervenreizung induzierten Kontraktionen. Die relative Hemmwirkung von Phenytoin nach maximalen Konzentrationen von Tetrodotoxin war zu 2/3 geringer als die absolute Hemmwirkung in der Versuchsanordnung 7. Die unterschiedliche Stärke der Inhibition von Phenytoin vor und nach Tetrodotoxin zeigt somit, daß Phenytoin zum großen Teil indirekt durch eine Beeinträchtigung der Nervenstimulation aber auch direkt die Erregung der glatten Muskulatur am Darm vermindert.

Der nervale Angriffspunkt von Phenytoin scheint dabei postganglionär zu sein. Hexamethonium unterdrückt die ganglionäre Transmission und schaltet somit die präganglionären Einflüsse bei der Nervenstimulation aus. Die Hemmwirkung von Phenytoin blieb durch Hexamethonium unbeeinflußt. Das deutet darauf hin, daß präganglionäre Strukturen nicht zur inhibitorischen Wirkung von Phenytoin beitragen.

Die nervös bedingten Kontraktionen der longitudinalen Muskulatur vom Meerschweinchen sind vorwiegend cholinerg bestimmt. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß der nervale Anteil der Inhibition durch Phenytoin auf eine Reduzierung der Ach-Freisetzung zurückzuführen ist. Das wäre möglich, indem Phenytoin direkt die Erregbarkeit intrinsischer cholinergischer Nerven vermindert oder indirekt indem es inhibitorische Nervenwege, die die Ach-Abgabe einschränken, stimuliert. Hier ergeben sich auch Aspekte, die Wirkung von Phenytoin am Darm mit den zentralen Wirkungsmechanismen zu vergleichen. Bianchi et al. (1975) berichteten, daß Phenytoin keinen Einfluß auf die Ach-Freisetzung vom Cortex bei normalen Meerschweinchen hatte, aber die abnorm hohe corticale Ach-Abgabe bei Meerschweinchen mit epileptischen Anfällen senkte. Die Autoren vermuteten einen indirekten Einfluß auf die präsynaptische Ach-Freisetzung.

NA ist ein inhibitorischer Transmitter sowohl im zentralen als auch im enteralen Nervensystem. Nach Meyer und Frey (1973) besitzt es eine essentielle Rolle für den antikonvulsiven Effekt von Phenytoin beim Elektroschock. Am Darm senkt NA die Ach-Freisetzung vom myenterischen Plexus durch Einwirkung auf α -Rezeptoren (Schaumann, 1958; Paton und Vizi, 1969). Unsere Versuche mit Guanethidin, das die Erregung postganglionärer sympathischer Neuronen unterdrückt, lassen vermuten, daß NA ebenfalls am Darm für die Wirkung von Phenytoin notwendig ist. Eine Vorbehandlung der Versuchstiere mit Guanethidin verminderte in den drei Versuchsanordnungen des zweiten Abschnitts die Hemmwirkung von Phenytoin. Weinberger et al. (1976) berichteten, daß Phenytoin die NA-Wiederaufnahme im ZNS hemmt, wodurch der inhibitorische Tonus durch eine Akkumulierung von NA angehoben werden könnte. Am Darm könnten ähnliche Mechanismen eine Rolle spielen. Dem steht bei unseren Versuchen entgegen, daß mit Propanolol (β -Blocker) kein und mit Phentolamin (α -Blocker) nur ein nicht signifikanter antagonistischer Effekt erzielt werden konnte. Eine ganglioplegische Wirkung von Guanethidin erscheint unwahrscheinlich, da Hexamethonium keinerlei Einfluß ausübte. Von Morphin und Enkephalin, einem endogenen Opiat, das sowohl im ZNS und im enteralen Nervensystem vorkommt, weiß man, daß sie die Ach-Freisetzung vom myenterischen Plexus reduzieren (Daniel, 1982 und 1968). Wie Phenytoin wirken diese Opiate (wie auch die α_2 -Agonisten) besonders effektiv bei submaximalen und niedrigfrequenten elektrischen Reizen. Morphin wirkt dabei direkt auf die Neuronen im myenterischen Plexus ein ohne Zwischenschaltung eines sekundären Transmitters (Daniel, 1982). Es hyperpolarisiert die Neuronenmembranen und führt so zu einer verminderten Erregbarkeit und damit zusammenhängend zu einem reduzierten Ach-Ausstoß, der mit dem kontraktile Effekt korreliert (Daniel, 1982). Die Verminderung der Ach-Freisetzung durch Morphin soll nicht durch die Inhibition

des Ach-Effluxes aus Transmitterpools konstanter Größe zustande kommen, sondern durch eine Reduzierung des Umfangs der Transmitterpools, z.B. durch die Abnahme der Anzahl erregter Nerven (North, 1982). Phenytoin hyperpolarisiert ebenfalls erregbare Membranen (DeWeer, 1980), und die Abhängigkeit seiner Hemmwirkung zur Reizintensität und Reizfrequenz ähnelt der von den Opiaten. Möglicherweise haben Phenytoin und Morphin vergleichbare Wirkungsmechanismen am Darm. Es wäre deshalb von Interesse zu untersuchen, inwiefern eine Vorbehandlung von Präparaten mit Morphin die Phenytoin-Wirkung beeinflusst.

Bicucullin ist ein relativ spezifischer GABA-Rezeptoren-antagonist. Die geringe, aber signifikante Wirkungseinbuße von Phenytoin nach Bicucullin bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen (s. Abb. 34) läßt sich mit den bisherigen Veröffentlichungen schwer erklären. Nach Krantis et al. (1980) sitzen GABA-Rezeptoren sowohl an cholinergen excitatorischen als auch intrinsischen inhibitorischen Nervenfasern. Der antagonistische Effekt von Bicucullin führt zu der Vermutung, daß bei diesen Reizparametern möglicherweise Phenytoin inhibitorische GABA-erge Mechanismen verstärkt, wenn auch nur in geringem Maße. Woodbury (1980) zitiert in seinem Artikel über die möglichen Wirkungsmechanismen von Phenytoin Arbeiten, die dem Antikonvulsivum eine Verstärkung der GABA-Wirkung, zum Teil auch GABA-ähnliche Effekte an Synapsen von Invertebraten zusprechen. Der Nettoeffekt dieser Aktion ist eine Steigerung der postsynaptischen Inhibition. Am Darm könnte die Verstärkung einer GABA-ergen postsynaptischen Hemmung an cholinergen Nervenfasern zu einer Reduzierung der Ach-Freisetzung führen.

Einen indirekten Hinweis auf ionale Wirkungsmechanismen von Phenytoin an erregbaren Membranen ergeben die Versuche mit submaximalen Konzentrationen von Tetrodotoxin bei Reizung mit submaximalen, repetitiven Einzelreizen und niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen. Toman (1965) spricht Phenytoin einen Tetrodotoxin-ähnlichen Ef-

fekt zu. Tetrodotoxin hemmt die Weiterleitung von Aktionspotentialen an Nerven und Skelettmuskulatur durch eine Blockade des schnellen Na^+ -Influxes (Kao, 1966). Die synergistische Wirkung von Phenytoin mit Tetrodotoxin in unseren Versuchen könnte dann eventuell aus einem zusätzlichen Einfluß auf die Na^+ -Leitfähigkeit resultieren, zumal eine Abnahme des Na^+ -Einstromes an erregbaren Membranen durch Phenytoin bekannt ist (Woodbury, 1980).

Ein postsynaptischer Atropin-ähnlicher Wirkungsmechanismus scheint nicht zum Hemmeffekt von Phenytoin beizutragen, da auch mit sehr hohen Atropin-Konzentrationen ($3 \times 10^{-6} \text{ M} = 1 \text{ } \mu\text{g/ml}$ Atropinsulfat) kein Einfluß zu verzeichnen war. Der fehlende additive Effekt von Phenytoin bei submaximaler Atropin-Konzentration, wie er bei Carbamazepin und Valproat beobachtet werden konnte, ist möglicherweise mit der relativ starken Eigenwirkung von Phenytoin in diesen Versuchsanordnungen (repetitive, submaximale Einzelreize und niedrigfrequente, supramaximale Serienreize) zu erklären. Versuche mit niedrigeren Phenytoin-Konzentrationen hätten hier eine Klärung bringen können.

Carbamazepin entwickelte eine nur mäßige Hemmwirkung im therapeutischen Konzentrationsbereich, wobei es am stärksten submaximale Einzelreize hemmte. Eine Frequenzabhängigkeit der Wirkung war nur schwach ausgeprägt.

Dennoch scheint Carbamazepin vorwiegend nervöse Strukturen zu beeinflussen, da mit Tetrodotoxin bei Reizung mit supramaximalen, hochfrequenten Serienreizen die Inhibition durch Carbamazepin stark reduziert wurde. Carbamazepin wirkt also wie Phenytoin. Der Hauptteil seiner inhibitorischen Aktivitäten geht auf Einflüsse an nervalen enteralen Elementen zurück, jedoch weist es auch eine direkte, muskulotrope Wirkungskomponente auf.

Carbamazepin scheint dabei als einziges der untersuchten Antiepileptica nachweisbare, präganglionäre Wirkungen zu entfalten, da Hexamethonium bei submaximalen, repetitiven und niedrigfrequenten, supramaximalen Reizen die Effek-

tivität von Carbamazepin reduzierte (s. Abb. 35). Das heißt, nachdem mit Hexamethonium die präganglionären Einflüsse unterdrückt worden waren, nahm die Hemmwirkung von Carbamazepin ab.

Ebenso wie bei Phenytoin ist es wahrscheinlich, daß der Inhibition durch Carbamazepin eine verminderte Ach-Freisetzung zugrunde liegt. Daß Carbamazepin cholinerge Nervenwege beeinflußt, ist von bestimmten Arealen des ZNS bekannt. Im Striatum von Rattengehirnen erhöht es die Ach-Konzentration und reduziert die Cholin-Konzentration. Eine Veränderung der spezifischen Enzymaktivitäten, die den Abbau bzw. die Synthese von Ach betreffen, konnte nicht nachgewiesen werden (Suria und Killam, 1980). Es ist deshalb denkbar, daß Carbamazepin in diesem Gehirnabschnitt die Ach-Freisetzung hemmt.

Eine Beteiligung inhibitorischer noradrenerger Strukturen an der Hemmung durch Carbamazepin konnte nicht nachgewiesen werden. Eine solche Vermutung lag nahe aufgrund seiner Strukturverwandtschaft zu den trizyklischen Antidepressiva, deren antiepileptischen Eigenschaften mit einer Hemmung der NA-Wiederaufnahme erklärt werden. Auch Carbamazepin in hohen Konzentrationen senkt die Wiederaufnahme von NA, reduziert aber gleichfalls dessen Freisetzung aus Gehirnsynaptosomen (Suria und Killam, 1980). Andere Arbeiten unterstützen die Hypothese, daß NA am antikonvulsiven Wirkungsmechanismus mitbeteiligt ist. Am Darm scheint NA keine Rolle in der Vermittlung der inhibitorischen Wirkung von Carbamazepin zu spielen, da weder Guanethidin, Phentolamin noch Propanolol die Hemmwirkung beeinträchtigten. Ein Einfluß auf GABA-Rezeptoren bzw. GABA-ähnliche Aktivitäten an erregbaren Membranen konnten für Carbamazepin bisher nicht nachgewiesen werden. Der antagonistische Effekt von Bicucullin gegenüber der Hemmwirkung von Carbamazepin bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen könnte auf eine Stimulierung inhibitorischer GABA-erger Mechanismen hindeuten (vgl. Phenytoin).

In den Versuchsanordnungen 5 und 6 (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize) war die relative Hemmwirkung von Carbamazepin nach submaximalen Konzentrationen von Tetrodotoxin stärker als die absolute Hemmwirkung. Versuche an peripheren Nerven zeigten, daß Carbamazepin die Erregbarkeit und die Weiterleitung von Aktionspotentialen an den nervalen Elementen unterdrückte durch eine Beschränkung der Na^+ -Konduktivität (Suria und Killam, 1980). Ebenso wirkt Tetrodotoxin. Möglich, daß hier in unseren Versuchen mit submaximalen Konzentrationen des Kugelfischgiftes die Effekte, die die Na^+ -Leitfähigkeit der Nerven betreffen, sich potenzieren mit dem Resultat einer allgemeinen Depression der Nerven-erregbarkeit. Die sich summierende verminderte Erregbarkeit excitatorischer cholinergischer Nerven würde zu einer Reduzierung der Ach-Freisetzung führen, die stärker wäre als nach einer alleinigen Applikation von Carbamazepin (vgl. Phenytoin).

In der Ausprägung der Korrelation zwischen Hemmwirkung und Reizintensität bzw. Reizfrequenz gleicht Valproat Phenytoin. Allerdings waren zur Darstellung der inhibitorischen Wirkung von Valproat Konzentrationen notwendig, die über die therapeutischen Konzentrationen hinausgehen. Sie bewegen sich jedoch noch in einem für pharmakologische Versuche üblichen Bereich. Die Abstufung der Hemmwirkung entsprechend den Reizparametern deutet wie bei Phenytoin darauf hin, daß Valproat die Kontraktionen indirekt hemmt. Das heißt, daß Valproat wohl über eine Hemmung excitatorischer nervöser Einflüsse wirkt, während seine direkte, muskulotrope Wirkung gering ist. Es scheint wie Phenytoin vorwiegend an postganglionären Nerven anzugreifen, da durch den Ganglienblocker Hexamethonium die inhibitorische Potenz unbeeinflusst blieb. Interessant wäre es, die Wechselwirkung von Valproat und Morphin an diesem Präparat zu untersuchen, da die Abhängigkeit der Hemmwirkung dieser beiden Stoffe von den Reizparametern ähnlich ist (vgl. Phenytoin).

Auffällig war die Wirkungszunahme von Valproat nach Bicucullin im Bereich submaximaler, repetitiver Einzelreize (s. Abb. 33). Das stand im Gegensatz zu den Beobachtungen bei Phenytoin und Carbamazepin, wo Bicucullin bei diesen Reizparametern zu einer Wirkungsabschwächung führte (s. Abb. 34). Für die antikonvulsiven Eigenschaften von Valproat werden vor allem Einflüsse auf den zentralen GABA-Gehalt und eventuell die Verstärkung der postsynaptischen GABA-ergen Inhibition verantwortlich gemacht. Unsere Ergebnisse am Darm könnten so erklärt werden, daß Valproat die Wirkung an excitatorischen GABA-Rezeptoren verstärkt, entweder durch eine Erhöhung der GABA-Konzentration oder durch GABA-ähnliche Aktivitäten an der postsynaptischen Membran. Die Blockade der GABA-ergen Excitation an cholinergen Nerven durch Bicucullin könnte dann bewirken, daß die inhibitorischen Effekte von Valproat verstärkt hervortreten. Eine andere Möglichkeit wäre, daß Valproat eine präsynaptische Inhibition durch GABA an adrenergen Nerven anregt und somit indirekt über GABA-Rezeptoren die NA-Freisetzung vermindert. Bicucullin würde der Abnahme des inhibitorischen adrenergen Tonus über GABA-erge Mechanismen entgegenwirken, was sich in einer zusätzlichen Hemmung zur Inhibition von Valproat niederschlagen und die Wirkungszunahme von Valproat nach Bicucullin erklären könnte.

Es wirft sich aber die Frage auf, inwieweit die Beobachtungen, die das Wechselspiel zwischen Bicucullin und den bisher aufgeführten Antiepileptica betreffen, spezifisch sind. Die Effekte sind zwar signifikant, jedoch recht gering ausgeprägt. Picrotoxin, ein anderer GABA-Antagonist, zeigte keinerlei Einflüsse auf die Wirkung der Antiepileptica. Das Verhalten von Valproat und Phenytoin im Zusammenhang mit Bicucullin ist konträr, wozu es keinerlei Hinweise von Beobachtungen an anderen Nervensystemen gibt, die das erklären könnten. Dazu ist das Wissen über die kleine GABA-erge Nervenpopulation im Darm und deren Funktion noch unzureichend.

Die Wirkungsverstärkung von Valproat und Carbarazepin nach submaximalen Konzentrationen von Atropin in den Versuchsanordnungen 5 und 6 (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize) und für Valproat nach Cyproheptadin in der Versuchsanordnung 5 sind eventuell durch additive Effekte erklärbar. Z.B. könnte eine begrenzte Blockade muscarinerger Rezeptoren durch eine kleine Konzentration von Atropin, die zuerst durch eine ungehemmte Ach-Ausschüttung überdeckt wird, nach Reduzierung der Ach-Freisetzung durch die Antiepileptica zum Hemmeffekt beitragen.

Phenobarbital-Na und Diazepam waren recht schwach wirksame Substanzen in unseren Versuchen, vergleicht man die therapeutischen Konzentrationen (s. Tab. 1) mit den von uns benötigten Dosen. Die Reiz-Wirkungskurven verlaufen mehr oder minder waagrecht, was bedeutet, daß diese Stoffe in allen Reizbereichen ähnlich stark hemmten. Daraus kann man ableiten, daß Phenobarbital-Na und Diazepam hauptsächlich direkt die Erregung der glatten intestinalen Muskulatur beeinträchtigen im Gegensatz zu den bisher besprochenen Antiepileptica. Für Phenobarbital-Na wird das weiter dadurch abgesichert, daß mit einer maximalen Konzentration von Tetrodotoxin keine signifikante Wirkungsänderung erzielt werden konnte und auch keine anderen Antagonisten einen Effekt auf die Wirkung von Phenobarbital-Na ausübten. Damit stimmten unsere Ergebnisse überein mit den Berichten von Naess und Schanche (1956) und Mayer et al. (1981), die als Wirkungsmechanismus der Barbiturate am Darm einen direkten Angriff an der Muskulatur postulierten.

Aufgrund der Ergebnisse des ersten Versuchsabschnitts (keine erkennbare Differenzierung der Wirkung von Diazepam bei verschiedenen Reizparamtern, relativ hohe Konzentrationen) und Hinweisen aus der Literatur begnügten wir uns im zweiten Versuchsabschnitt damit, die Wirkung von Tetrodotoxin gegenüber Diazepam zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigten, daß eine maximale Konzentration von Tetrodotoxin die Inhi-

bition durch Diazepam geringfügig aber signifikant antagonisierte. Daraus kann abgeleitet werden, daß der Angriffspunkt von Diazepam am Darm nicht 100%ig muskulotrop ist, sondern eine schwache Beeinträchtigung nervöser Strukturen zur Hemmwirkung beiträgt. Vorherrschend bleibt jedoch wohl der direkte, spasmolytische Effekt von Diazepam an der glatten Muskulatur, wie er von Huck et al. (1975) beschrieben wurde.

Der fehlende Einfluß von Phenobarbital-Na und Diazepam an enteralen nervalen Elementen läßt es nicht sinnvoll erscheinen, die Wirkung dieser Stoffe am Darm mit zentralen Wirkungsmechanismen zu vergleichen.

Ethosuximid zeigte in Konzentrationen bis zu 200 µg/ml in unseren Versuchen keinen nennenswerten Effekt. Das führt zu der Überlegung, inwieweit es angebracht ist, das Darmpräparat zu vergleichenden Untersuchungen über Nervensysteme heranzuziehen, wenn effektive Antiepileptica wie Phenobarbital, Diazepam und Ethosuximid entweder nur die Erregung der glatten Muskulatur direkt beeinflussen oder überhaupt keinen Einfluß in tolerablen Konzentrationsgrenzen auf den Darm entwickeln. Dazu kommt, daß bei diesem Präparat das cholinerge Nervensystem dominiert (vor allem was die nerval bedingten Kontraktionen der longitudinalen Muskelschicht betrifft). Bei Untersuchungen anderer Nervenpopulationen sollten Atropin und Hexamethonium dem Medium zugefügt sein, um die cholinerg bestimmten Reizantworten auszuschalten. Für weitere Untersuchungen in dieser Richtung bieten sich nach unseren Resultaten Phenytoin, Valproat und Carbamazepin an, da diese Antiepileptica auch nerval angreifen.

Unsere Versuche mit Phenhydan®, einer 5% Phenytoin-Lösung mit einem 50% Anteil von Glycofurol als Lösungsvermittler, zeigten einen vielfach stärkeren Hemmeffekt der Kombination Phenytoin-Glycofurol als von Phenytoin, das durch Alkalisierung in Lösung gebracht wurde. Ähnliche Ergebnisse erzielten Huck et al. (1975) und Mitolo-Chieppa und

Cuomo (1977) mit Propylenglycol als Lösungsvermittler von Benzodiazepinen. Das legt den Schluß nahe, daß die organischen Lösungsvermittler auf Glycolbasis spürbare, eigene pharmakologische Wirkungen entwickeln. Einige Testversuche mit Glycofurol bestätigten unsere Vermutung. So konnten mit 25 µl/ml Glycofurol die Kontraktionsamplituden bei Reizung mit repetitiven, supramaximalen Einzelreizen zu 70% reduziert werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluß sechs gebräuchlicher Antiepileptica - Phenytoin, Phenobarbital, Carbamazepin, Diazepam, Valproat und Ethosuximid - auf das elektrisch stimulierte Meerschweinchenileum untersucht. Die Reizparameter (Reizintensität und Reizfrequenz) wurden variiert, um selektiv verschiedene Nervenqualitäten und letztlich die glatte Muskulatur direkt zu erregen und um zu beobachten, inwiefern die Wirkung der Reizung durch die Antiepileptica beeinflusst wird. Weiter wurde der Einfluß von bekannten Antagonisten in drei verschiedenen Versuchsanordnungen (repetitive, submaximale Einzelreize; niedrigfrequente, supramaximale Serienreize; hochfrequente, supramaximale Serienreize) auf die Antikonvulsiva-Wirkung untersucht. Als Maß der Effekte der Antiepileptica diente die Kontraktionsstärke ganzer Ileumstücke.

Die Antiepileptica mit Ausnahme von Ethosuximid hemmten dosisabhängig und reversibel die mit elektrischen Reizen ausgelösten Kontraktionen. Ethosuximid war in unseren Versuchen in Konzentrationen bis zu 200 µg/ml fast wirkungslos. Bei den anderen Antikonvulsiva trat die inhibitorische Wirkung beinahe augenblicklich ein und erreichte ihr Maximum nach 2-3 min.

Phenytoin (1-20 µg/ml), Carbamazepin (1-12 µg/ml) und Na-Valproat (5-500 µg/ml) reduzierten besonders stark die durch submaximale bzw. niedrigfrequente Reize induzierten Kontraktionen, während die Hemmwirkung von Phenobarbital-Na (5-100 µg/ml) und Diazepam (0.5-4 µg/ml) unabhängig von der Reizintensität und Reizfrequenz war.

Bei den Versuchen mit den Antagonisten ergab sich folgendes Bild:

Die inhibitorische Wirkung von Phenytoin wurde in allen drei Versuchsanordnungen von Guanethidin, bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen von Bicucullin antagonisiert. Submaximale Konzentrationen von Tetrodotoxin

verstärkten die Hemmwirkung von Phenytoin. Maximale Konzentrationen von Tetrodotoxin dagegen hoben die Hemmung durch Phenytoin bei Reizung mit supramaximalen, hochfrequenten Serienreizen zu 2/3 auf.

Durch Nervenparalyse mit Tetrodotoxin wurde die Wirksamkeit von Carbamazepin stark abgeschwächt. Weitere antagonistische Effekte konnten mit Hexamethonium und Bicucullin bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen und mit Hexamethonium bei Reizung mit niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen erzielt werden. Submaximale Konzentrationen von Tetrodotoxin und Atropin verstärkten die Hemmwirkung von Carbamazepin. Antagonistische Effekte konnten mit keinem der Antagonisten bei Valproat nachgewiesen werden. Bicucullin, Cyproheptadin und submaximale Konzentrationen von Atropin verstärkten bei Reizung mit repetitiven, submaximalen Einzelreizen oder niedrigfrequenten, supramaximalen Serienreizen die Inhibition durch Valproat. Die Wirkung von Phenobarbital-Na wurde von keinem Antagonisten signifikant beeinflusst. Maximale Konzentrationen von Tetrodotoxin schwächten geringfügig die Inhibition durch Diazepam ab.

Die negative Korrelation der Hemmwirkung mit der Reizintensität und der Reizfrequenz sowie die Wirkungsabschwächung nach Nervenparalyse lassen vermuten, daß Phenytoin, Carbamazepin und Valproat einen großen Teil ihrer inhibitorischen Wirkung indirekt über eine Beeinträchtigung des enteralen Nervensystems ausüben. Phenytoin und Valproat wirken dabei an postganglionären Strukturen, dagegen scheinen bei Carbamazepin auch Einflüsse auf präganglionäre nervöse Elemente eine Rolle zu spielen. Phenobarbital-Na und Diazepam reduzieren vorwiegend direkt die Erregung der glatten intestinalen Muskulatur.

7. SUMMARY

The effects of six clinically used antiepileptics - phenytoin, phenobarbital, carbamazepine, diazepam, valproate and ethosuximide - were studied upon electrically evoked contractions of isolated guinea pig ileum. The electrical parameters of stimulation (voltage and frequency) were varied in order to excite different qualities of nerves and also the smooth muscle. Furthermore, the influence of known antagonists upon the reactions to the drugs was examined.

The antiepileptics, except ethosuximide, reversibly reduced the electrically induced contractions in a dose-dependent manner. Ethosuximide (50-200 $\mu\text{g/ml}$) did not alter the amplitudes of contractions significantly. The inhibitory effects produced by the other antiepileptics nearly set in at once and reached the maximum after 2-3 minutes.

Phenytoin (1-20 $\mu\text{g/ml}$), carbamazepine (1-12 $\mu\text{g/ml}$) and sodium valproate (5-500 $\mu\text{g/ml}$) diminished in particular contractions evoked by submaximal and low-frequency stimulation. The strength of reduction by phenobarbital and diazepam was independent of voltage and frequency.

The inhibitory actions of phenytoin were antagonised by guanethidin in all stimulation arrangements (repetitive submaximal single-shocks, supramaximal low- and high-frequency stimulation). Bicuculline antagonised partly the phenytoin-action during repetitive submaximal stimulation by single-shocks. Submaximal concentrations of tetrodotoxin intensified the inhibition by phenytoin, but maximal concentrations antagonised the inhibitory efficiency strongly.

Total nerve paralysis by tetrodotoxin diminished the inhibition induced by carbamazepine. Also hexamethonium and bicuculline antagonised the actions of carbamazepine during stimulation by submaximal repetitive single-shocks.

Hexamethonium further showed antagonistic properties against carbamazepine during supramaximal low-frequency stimulation. Submaximal concentrations of atropine and tetrodotoxin intensified the inhibition produced by carbamazepine.

With valproate there were no notable antagonistic actions by the used drugs. Bicuculline, cyproheptadine and submaximal concentrations of atropine intensified the inhibition induced by valproate during stimulation by repetitive submaximal single-shocks or supramaximal low-frequency shocks.

The actions of phenobarbital were not changed significantly by any antagonist. Maximal concentrations of tetrodotoxin diminished slightly the inhibitory efficiency of diazepam.

Because of the negative correlation between the inhibitory strength and the stimulation parameters and because of the loss of efficiency after nerve paralysis we suggest that phenytoin, carbamazepine and valproate inhibit the electrically induced contractions to a great extent by interactions with the enteric nervous system. Phenytoin and valproate act postganglionically while the inhibitory effect of carbamazepine depends partly on pre-ganglionic nervous structures. Phenobarbital and diazepam reduce for the most part directly the excitation of intestinal smooth muscle.

8. BEISPIELE

Abb. 25: Die Wirkung von 10 µg/ml Phenytoin bei Reizung mit Einzelreizen von steigender Intensität. . = Spülung und 10 min. Ruhephase.

Abb. 26: Die Wirkung von 12 µg/ml Carbamazepin bei Reizung mit Einzelreizen steigender Intensität.

Abb. 27: Die Wirkung von 10 µg/ml Phenytoin bei Reizung mit Einzel- bzw. Serienreizen niedriger Intensität bei steigender Impulszahl/sec.

Abb. 28: Die Wirkung von 4 µg/ml Diazepam bei Reizung mit Einzel- bzw. Serienreizen niedriger Intensität bei steigender Impulszahl/sec.

Abb. 29: Die Wirkung von 12 µg/ml Carbamazepin bei Reizung mit supramaximalen Einzel- bzw. Serienreizen bei steigender Impulszahl/sec.

Abb. 30: Die Wirkung von 100 µg/ml Phenobarbital-Na bei Reizung mit supramaximalen Einzel- bzw. Serienreizen bei steigender Impulszahl/sec.

Abb. 31: Die Wirkung von Phenytoin bei repetitiver, supramaximaler Reizung mit Einzelreizen in Abständen von 5 sec.

Abb. 32: Die Wirkung von Carbamazepin bei repetitiver, supramaximaler Reizung mit Einzelreizen in Abständen von 5 sec.

Abb. 33: a) Der Einfluß von 10 µg/ml Bicucullin auf die Wirkung von 250 µg/ml Na-Valproat bei repetitiver, submaximaler Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec.
b) Als Vergleich dazu die Wirkung von 250 µg/ml Na-Valproat ohne Bicucullin bei gleichen Reizparametern am selben Präparat.

Abb. 34: Der Einfluß von 10 µg/ml Bicucullin auf die Wirkung von 10 µg/ml Phenytoin bei repetitiver, submaximaler Reizung mit Einzelreizen alle 20 sec. Zum Vergleich die Wirkung von 10 µg/ml Phenytoin ohne Bicucullin bei gleichen Reizparametern am selben Präparat.

Abb. 35: Der Einfluß von 30 µg/ml Hexamethonium HCl auf die Wirkung von 12 µg/ml Carbamazepin bei Reizung mit niedrigfrequenten (1 Impuls/sec), supramaximalen Serienreizen alle 30 sec. Zum Vergleich die Wirkung von 12 µg/ml Carbamazepin ohne Hexamethonium bei den gleichen Reizparametern am selben Präparat.

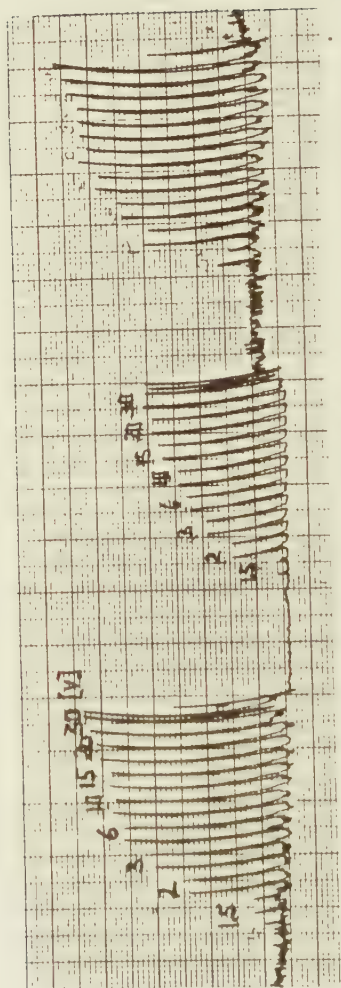


Abb. 25

Kontrolle Phenytoin 10 µg/ml

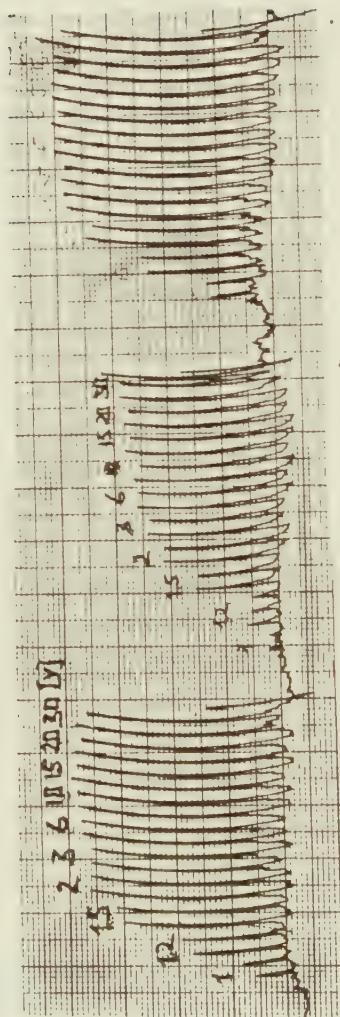


Abb. 26

Kontrolle Carbamazepin 12 µg/ml

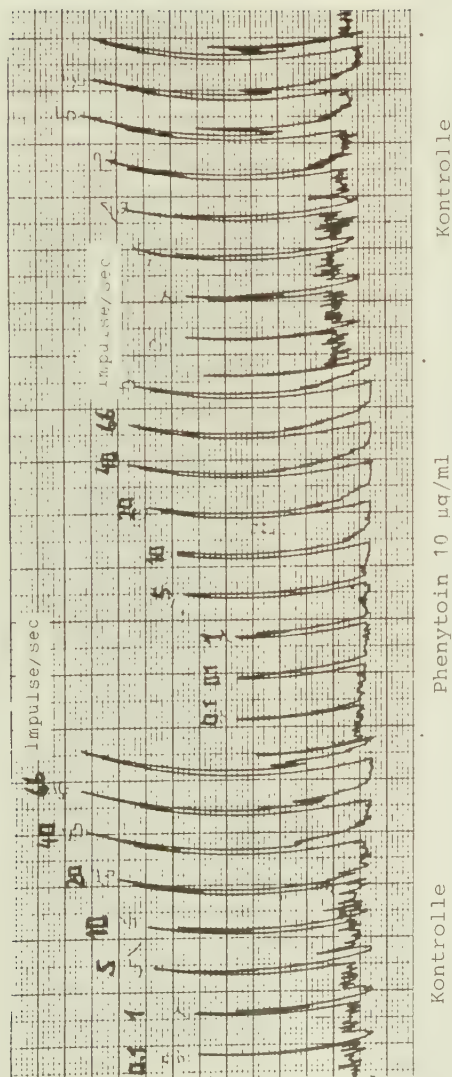


Abb. 27

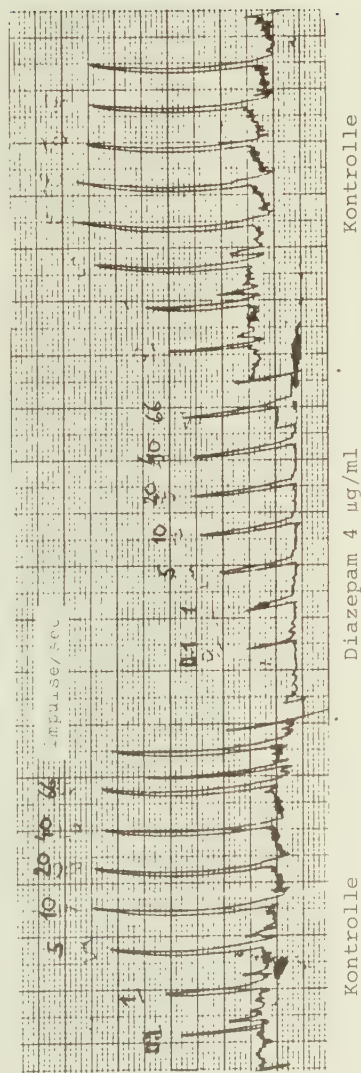


Abb. 28

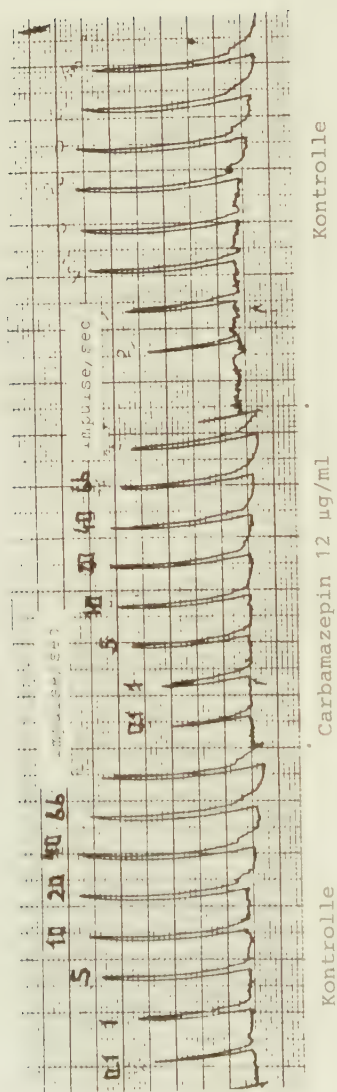


Abb. 29

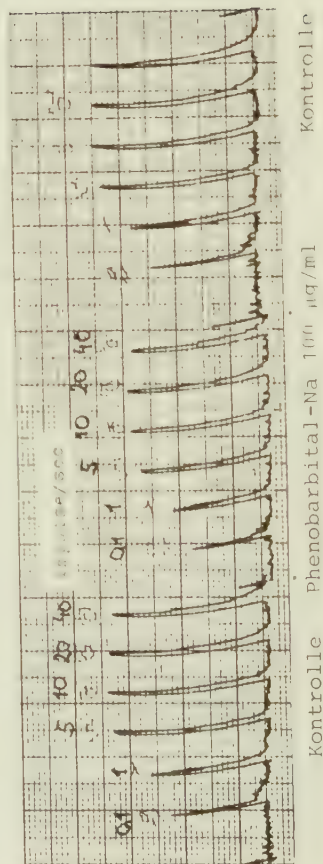
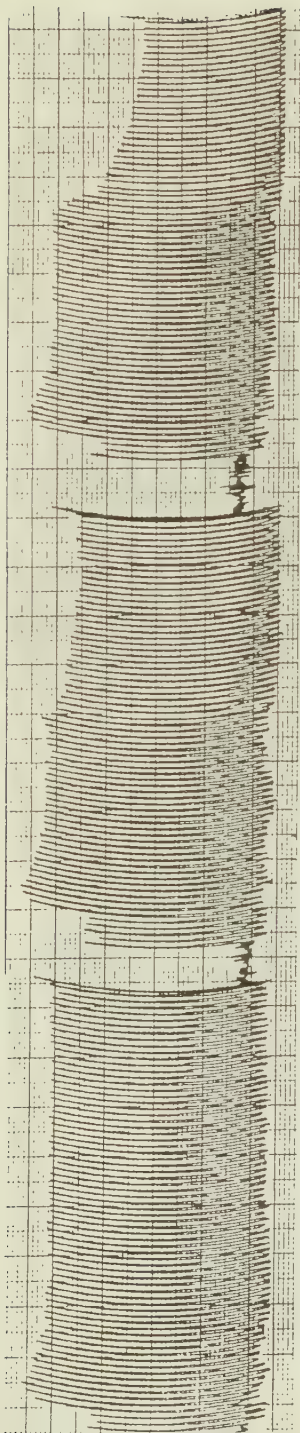


Abb. 30



Kontrolle

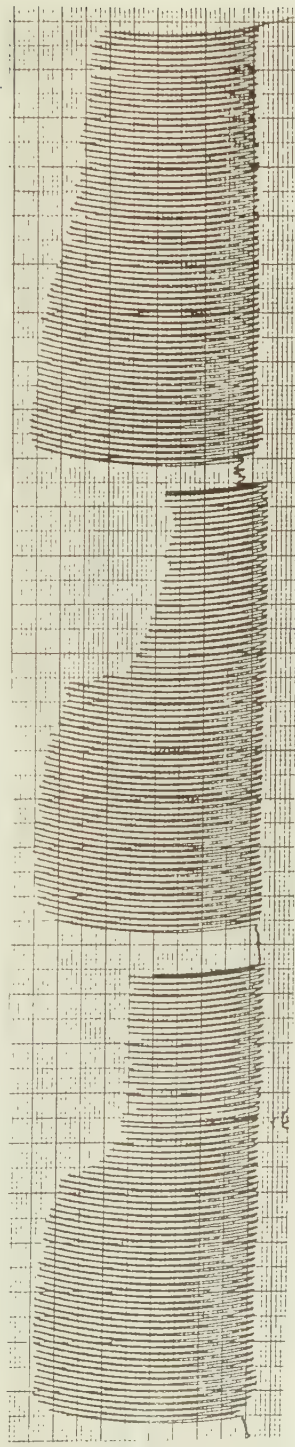
†Phenytoin 4 $\mu\text{g/ml}$

†Phenytoin
10 $\mu\text{g/ml}$

Repetitive Einzelreize mit 30 V

Abb. 31

- 147 -



†Carbamazepin 6 $\mu\text{g/ml}$

†Carbamazepin 12 $\mu\text{g/ml}$

Kontrolle

Abb. 32

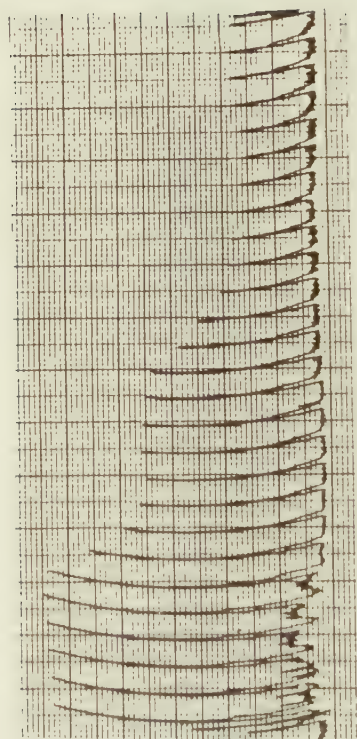


Abb. 33a

+ 250 μ g/ml Valproat-Na

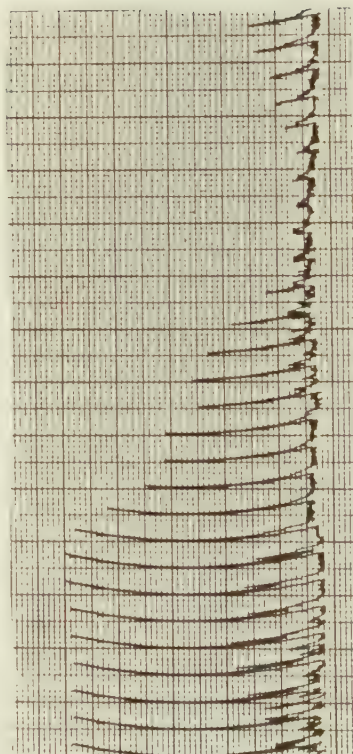
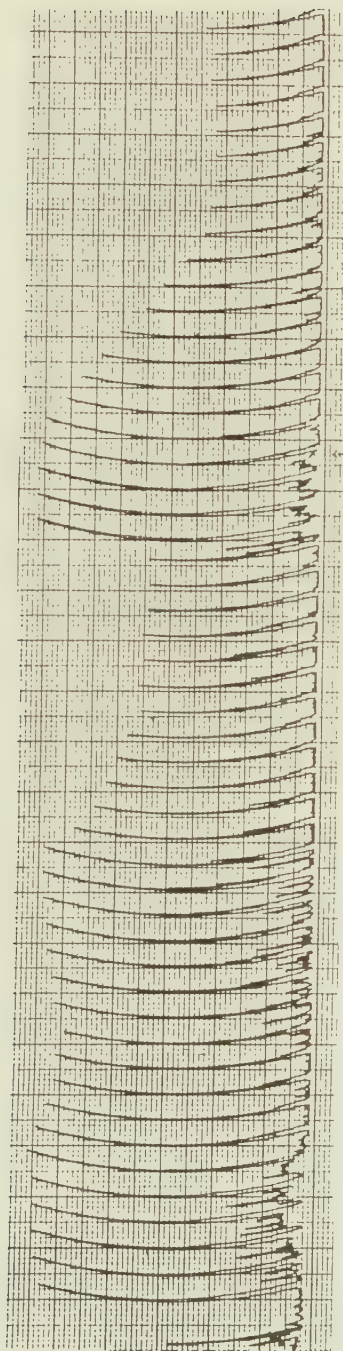


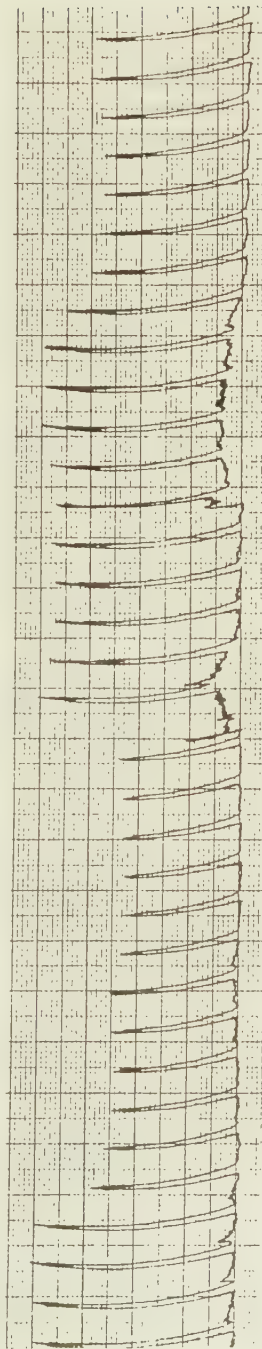
Abb. 33b

+ 10 μ g/ml Biccucullin
+ 250 μ g/ml Valproat-Na



† Bicucullin 10 $\mu\text{g/ml}$ † Phenytoin 10 $\mu\text{g/ml}$ † Phenytoin 10 $\mu\text{g/ml}$

Abb. 34



† Hexamethonium HCl 30 $\mu\text{g/ml}$ † Carbamazepin 12 $\mu\text{g/ml}$ † Carbamazepin 12 $\mu\text{g/ml}$

Abb. 35

9. LITERATUR

- Ambache N. and Freeman M.A.:
Atropine resistant longitudinal muscle spasm due
to the excitation of non-cholinergic neurones in
Auerbach's plexus
J.Physiol. (Lond.) 199: 705-728 (1968)
- Ambache N., Verney J. and Zar M.A.:
Evidence for the release of two atropin resistant
spasmogens from Auerbach's plexus
J.Physiol. (Lond.) 207: 761-782 (1970)
- Aston R. and Domino E.F.:
Differential effects of phenobarbital, pentobarbi-
tal and diphenylhydantoin on motor cortical and
reticular threshold in the rhesus monkey
Psychopharmacologia 2: 304-317 (1961)
- Baker R.V., Blaschko H. and Born G.V.R.:
The isolation from blood platelets of particles
containing 5-hydroxytryptamine and adenosinetri-
phosphate
J.Physiol. (Lond.) 149: 55-56 (1959)
- Bartho L., Sebök B. and Szolcsanyi J.:
Indirect evidence for the inhibition of enteric
substance P neurones by opiate agonist but not
by capsaicin
Europ.J.Pharmacol. 77: 273-279 (1982)
- Bass A.B., Sastry B.V.R. and Owens L.K.:
Presynaptic muscarine receptors and enkephalins:
Their role for the release of acetylcholine in
the guinea pig longitudinal ileal muscle
Fed.Proc. 38: 273 (1979)
- Bauer V.:
Distribution and types of adrenoceptors in the
guinea pig ileum: The action of α - and β -adreno-
ceptor agonists
Brit.J.Pharmacol. 72: 201-210 (1981)
- Bauer V.:
Distribution and types of adrenoceptors in the
guinea pig ileum: The action of α - and β -adreno-
ceptor blocking agents
Brit.J.Pharmacol. 76: 569-578 (1982)
- Bauer V. and Kuriyama H.:
Homogeneous and non-homogeneous distribution of
inhibitory and excitatory adrenoceptors in the
longitudinal muscle of the guinea pig ileum
Brit.J.Pharmacol. 76: 603-611 (1982)

- Benet L.Z. and Sheiner L.B.:
Appendix II: Design and optimization of dosage regimens; pharmacocinetic data
In: The pharmacological basis of therapeutics; Goodman Gilman A., Goodman L.S., Gilman A. (eds.), pp. 1675-1738, Macmillan Publishing Co., New York, 6. edition (1981)
- Bennet A. and Stockley H.L.:
Electrically induced contractions of guinea pig isolated ileum resistant to tetrodotoxin
Brit.J.Pharmacol. 48: 357-360 P (1973)
- Bennet A. and Stockley H.L.:
Effect of electrode positions on contractions of guinea pig isolated ileum to electrical stimulation
Brit.J.Pharmacol. 50: 453-454 P (1974)
- Bianchi C., Beani L. and Bertelli A.:
Effects of some antiepileptic drugs on brain acetylcholine
Neuropharmacology 14: 327-332 (1975)
- Bonduelle M.:
Clinical experiments with the antiepileptic G 32 883 (Tegretol): Results in 100 cases observed over a three year period
Rev.neurol. 110: 209-215 (1964)
- Bortoff A.:
Myogenic control of intestinal motility
Physiol.Rev. 56: 418-424 (1976)
- Brody T.M. and Diamond J.:
Blockade of the biochemical correlates of contraction and relaxation in uterine and intestinal smooth muscle
Ann.N.Y.Acad.Sci. 139: 772, 780 (1967)
- Bülbring E. and Gershon M.D.:
5-hydroxytryptamine participation in the vagal inhibitory innervation of the stomach
J.Physiol. (Lond.) 192: 823-846 (1967)
- Bülbring E., Ohashi H. and Tomita T.:
Adrenergic mechanisms
In: Smooth muscle; Bülbring E., Brading A.F., Jones A.W. and Tomita T. (eds.), pp. 219-248, Edward Arnold, London (1981)
- Burnstock G.:
Structure of smooth muscle and its innervation
In: Smooth muscle; Bülbring E., Brading A.F., Jones A.W. and Tomita T. (eds.), pp. 1-70, Edward Arnold, London (1970)

- Burnstock, G.:
Purinerbic nerves
Pharmacol.Rev. 24: 509-581 (1972)
- Burnstock G.:
Ultrastructure of automatic nerves and neuroeffector junctions: Analysis of drug action
In: Methods of pharmacology; Daniel E.E. and Paton D.M. (eds.), vol. 3 smooth muscle, pp. 113-137, Plenum Press, New York (1975)
- Burnstock G., Campbell G., Satchell D.G. and Smythe A.:
Evidence that adenosine triphosphate or a related nucleotide is the transmitter substance released by non-adrenergic inhibitory nerves in the gut
Brit.J.Pharmacol. 40: 668-688 (1970)
- Cajal S.R.:
Sur les ganglions et plexus nerveux d'intestin
C.R.Soc.Biol. (Paris) 5: 217 (1893)
- Campese V.M., Cuomo V., Russo R. and Marino A.:
Effetti di un nuovo benzodiazepinico (bromazepam) sull'intestino isolato di cavia
Boll.Soc.ital.Biol.sper. 48: 807-811 (1972)
- Casteels R.:
Membrane potential in smooth muscle cells
In: Smooth muscle; Bülbbring E., Brading A.F., Jones A.W. and Tomita T. (eds.), pp. 105-126, Edward Arnold, London (1981)
- Costa M., Furness J.B. and Gabella G.:
Catecholamine containing nerve cells in the mammalian myenteric plexus
Histochemie 25: 103-106 (1971)
- Cowie A.L., Kosterlitz H.W. and Waterfield A.A.:
Factors influencing the release of acetyltholine from the myenteric plexus of the ileum of the guinea pig and rabbit
Brit.J.Pharmacol. 64: 565-580 (1978)
- Daniel E.E.:
Pharmacology of the gastrointestinal tract
In: Handbook of physiology; Code C.F. (ed.), section 6, vol. 4 alimentary canal, pp. 1969-1984, American Physiological Society, Washington (1968)
- Daniel E.E.:
Pharmacology of adrenergic, cholinergic and drugs acting on other receptors in gastrointestinal muscle
In: Handbook of experimental pharmacology, vol. 59 II, Bertaccini G. (ed.), pp. 249-305, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1982)

- De Weer P.:
Phenytoin: Blockade of resting sodium channels
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action;
Glaser, G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.),
pp. 353-361, Raven Press, New York (1980)
- Dowdle B.B. and Maske R.:
The effects of calcium concentration in the inhibition of cholinergic neurotransmission in the myenteric plexus of guinea pig ileum by adenine nucleotides
Brit.J.Pharmacol. 71: 245-252 (1980)
- Druckman R. and Moore F.J.:
Effects of sodium diphenylhydantoinate upon isolated small intestine of the rabbit
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 90: 173-176 (1955)
- Eadie M.J. and Tyrer J.H.:
Anticonvulsant therapy: Pharmacological basis and practice; Eadie M.J. and Tyrer J.H. (ed.), 2. edition, Churchill Livingstone, Edinburgh-London-New York (1980)
- Emellin N.:
Evipan and the parasympathetic nervous system
Acta physiol.Scand. 2: 289-310 (1941)
- von Euler U.S.:
The nature of adrenergic nerve mediators
Pharmacol.Rev. 3: 247-277 (1951)
- Farrar J.T. and Zfass A.M.:
Small intestine motility
Gastroenterology 52: 185-202 (1967)
- Ferrari M. and Furlanut M.:
Effects of diphenylhydantoin on smooth muscle
Arch.int.Pharmacodyn. 203: 101-106 (1973)
- Ferrendelli J.A. and Kupferberg H.J.:
Antiepileptic drugs: Succinimides
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action;
Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.),
pp. 587-596, Raven Press, New York (1980)
- Finkleman B.:
On the nature of inhibition in the intestine
J.Physiol. (Lond.) 70: 145-157 (1930)
- Franco R., Costa M. and Furness J.B.:
Evidence for the release of endogenous substance P from intestinal nerves
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 306: 195-201 (1979)

- Furness J.B.:
Secondary excitation of intestinal smooth muscle
Brit.J.Pharmacol. 41: 213-226 (1971)
- Furness J.B. and Costa M.:
The nervous release and the action of substances
which affect intestinal smooth muscle through
neither adrenoceptors nor cholinoreceptors
Phil.Trans.B 265: 123-133 (1973)
- Gabella G.:
Intercellular junctions between circular and long-
itudinal intestinal muscle layer
Z.Zellforsch. 125: 191-199 (1972)
- Gabella G.:
Innervation of the gastrointestinal tract
Int.Rev.Cytol. 59: 129-193 (1979)
- Gabella G.:
Structural aspects of the intramural plexus
In: Smooth muscle; Bülbring E., Brading A.F.,
Jones A.W. and Tomita T. (eds.), pp. 339-351, Ed-
ward Arnold, London (1981)
- Gayet-Hallion T.H.:
Action de certains anticonvulsants sur le muscle
lisse
C.R.Soc.Biol. (Paris) 138: 332-334 (1944)
- Gershon M.D.:
Effects of tetrodotoxin on innervated smooth muscle
preparations
Brit.J.Pharmacol. 29: 159-279 (1967)
- Gershon M.D.:
The enteric nervous system: Multiplicity of neuro-
transmitters outside of the brain
In: Smooth muscle; Bülbring E., Brading A.F.,
Jones A.W. and Tomita T. (eds.), pp. 263-284, Ed-
ward Arnold, London (1981)
- Gintzler A.R. and Scalisi J.A.:
Effects of opioids on non-cholinergic excitatory
responses of the quinea pig isolated ileum: In-
hibition of release of enteric substance P
Brit.J.Pharmacol. 75: 199-205 (1982)
- Girdhar A., Dhumal V.R., Gulati O.D., Bhavsar V.H. and
Hemavathi G.:
Effect of γ -aminobutyric acid on the rabbit isolat-
ed intestine
J.Pharm.Pharmacol. 33: 614-615 (1981)

Gluckman M.L.:

Pharmacology of oxazepam (Serax), a new anti-anxiety agent
Curr.ther.Res. 7: 721-740 (1965)

Gruber C.M.:

The influence of barbituric acid, of some benzyl derivatives and of the pH of fluids on the tonus and rhythmic movements of excised segments of intestine, uterus and ureters
J.Pharmacol.exp.Ther. 30: 149-162 (1972)

Gustafsson L., Hedqvist P., Fredholm B.B. and Ludgren G.:
Inhibition of acetylcholine release in guinea pig ileum by adenosine
Acta physiol.Scand. 104: 469-478 (1978)

Härtfelder G., Kuschinsky G. and Mosler K.H.:
Über pharmakologische Wirkungen an elektrisch gereizten glatten Muskeln
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 234: 66-78 (1958)

Harry J.:

Effect of cooling, local anaesthetic compounds and botulinum toxin on the responses of and the acetylcholine output from the electrically transmurally stimulated isolated guinea pig ileum
Brit.J.Pharmacol. 19: 42-55 (1962)

Harry J.:

The action of drugs on the circular muscle strip from the guinea pig isolated ileum
Brit.J.Pharmacol. 20: 399-417 (1963)

Harvey S.C.:

Hypnotics and sedatives
In: The pharmacological basis of therapeutics; Goodman Gilman A., Goodman L.S. and Gilman A. (eds.), 6. edition, pp. 339-375, Macmillan Publishing Co., Inc., New York (1981)

Henderson R.M.:

Cell to cell contact
In: Methods of pharmacology; Daniel E.E. and Paton D.M. (eds.), vol. 3 smooth muscle, pp. 47-80, Plenum Press, New York (1975)

Herz A.:

Synaptische Überträgersubstanzen und Krampf
Pharmakopsychiat. Neuro-Psychopharmakol. 3: 133-150 (1970)

- Hillarp N.A.:
The construction of functional organisation of
the autonomic innervation apparatus
Acta physiol.Scand. 46: 1 (1959)
- Hobbiger, F.:
Antagonism by γ -aminobutyric acid to the actions
of 5-hydroxytryptamine and nicotine on isolated
organs
J.Physiol. (Lond.) 144: 349-360 (1958)
- Holman M.E.:
Nerve-muscle preparations of the small intestine
In: *Methods of pharmacology*; Daniel. E.E. and
Paton M.D. (eds.), vol. 3 smooth muscle, pp. 361-
383, Plenum Press, New York (1975)
- Huck S., Stacher G., Gogolak G. and Stumpf Ch.:
Action of six commonly used benzodiazepines on
isolated guinea pig ileum preparation
Arch.int.Pharmacodyn. 218: 77-83 (1975)
- Huizinga J.D., Pielkenrood J.M. and Den Hertog A.:
Dual action of high energy adenine nucleotides
in comparison with responses evoked by other
adenine derivatives and intramural nerve stimula-
tion on smooth muscle
Europ.J.Pharmacol. 74: 175-180 (1981)
- Inouye A., Fukuya M., Tsuchiya K. and Tsujioka T.Y.:
Studies on effect of γ -aminobutyric acid on
isolated guinea pig ileum
Japan.J.Physiol. 10: 167-182 (1960)
- Ishii K., Kano T., Akutayawa M., Makino M., Tanaka T. and
Ando J.:
Effects of flurazepam and diazepam in isolated
guinea pig taenia coli and longitudinal muscle
Europ.J.Pharmacol. 83: 329-333 (1982)
- Jessen K.R.:
GABA and the enteric nervous system
Mol.cell.Biochem. 38: 69-76 (1981)
- Jessen K.R., Polak J.M., Norden van S., Bloom S.R. and
Burnstock G.:
Peptid-containing neurones connect the two gan-
glionated plexuses of the enteric nervous system
Nature (Lond.) 283: 391-393 (1980)
- Jurna I.:
Antiepileptika: Pharmakotherapie der Epilepsie
In: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und
Toxikologie*; Forth W., Henschler D. und Rummel
W. (Hrsg.), S. 411-417, Bibliographisches Insti-
tut Mannheim/Wien/Zürich (1977)

- Kalant H. and Grose W.:
Effects of ethanol and pentobarbital on release
of acetylcholine from cerebral cortex slices
J.Pharmacol.exp.Ther. 158: 386-393 (1967)
- Kao C.Y.:
Tetrodotoxin, saxitoxin and their significance
in the study of excitation phenomena
Pharmacol.Rev. 18: 997-1049 (1966)
- Kern H. und Lembeck F.:
Die Wirkung von d-Tubocurarin, Dekamethonium und
Succinylcholin am elektrisch gereizten Meer-
schweinchenileum
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 236:
325-330 (1959)
- Kerwin R.W. and Taberner P.V.:
The mechanism of valproinic acid (VPA-Na)
Gen.Pharmacol. 12: 71-75 (1981)
- Kilbinger H. und Weihrauch T.R.:
Drugs increasing gastrointestinal motility
Pharmacology 25: 61-72 (1982)
- Killam E.K. and Suria A.:
Antiepileptic drugs: Benzodiazepines
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action;
Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.),
pp. 597-615, Raven Press, New York (1980)
- Kosterlitz H.W. and Lees G.M.:
Pharmacological analysis of intrinsic intestinal
reflexes
Pharmacol.Rev. 16: 301-339 (1964)
- Kosterlitz H.W. and Watt A.J.:
Adrenergic receptors in the guinea pig ileum
J.Physiol. (Lond.) 177: 11-12 P (1965)
- Kosterlitz H.W. and Lydon R.J.:
Impulse transmission in the myenteric plexus - long-
itudinal muscle preparation of the guinea pig
ileum
Brit.J.Pharmacol. 43: 74-85 (1971)
- Kottegoda S.R.:
Peristalsis of the small intestine
In: Smooth muscle; Bülbring E., Brading A.F., Jones
A.W. and Tomita T. (eds.), pp. 525-541, Edward
Arnold, London (1970)
- Krantis A. and Kerr D.I.B.:
GABA induced excitatory responses in the guinea pig
small intestine are antagonized by bicuculline,

- microtoxin and chloride ion blockers
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 317: 257-261 (1981)
- Krantis A., Costa M., Furness J.B. and Orbach J.:
 γ -aminobutyric acid stimulates intrinsic inhibitory and excitatory nerves in the guinea pig intestine
Europ.J.Pharmacol. 67: 461-468 (1980)
- Kuriyama H., Osa T. and Toida N.:
Electrophysiological study of the intestinal smooth muscle of the guinea pig
J.Physiol. (Lond.) 191: 239-255 (1967)
- Kupferberg H.J.:
Antiepileptic drugs: Sodium valproate
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action; Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.), pp. 643-654, Raven Press, New York (1980)
- Langley J.N.:
The autonomic nervous system
Heffer W., Cambridge (1921)
- Leeuwin R.S., Djojodibrotto R.D. and Groenewoud E.Th.:
The effects of three benzodiazepines and meprobamate on the action of smooth muscle stimulants on the guinea pig ileum
Arch.int.Pharmacodyn. 217: 18-21 (1975)
- Leme J.G. and Rocha e Silva M.:
Competitive and non-competitive inhibition of bradykinin on the guinea pig ileum
Brit.J.Pharmacol. 25: 50-58 (1965)
- Löscher W.:
Einfluß klinisch gebräuchlicher Antikonvulsiva auf das γ -Aminobuttersäuresystem bei der Maus
Dissertation, FU Berlin (1975)
- Löscher W.:
Medikamentöse Wirkungsmechanismen der Antiepileptika mit der Berücksichtigung des Transmitterstoffwechsels: Tierexperimentelle Aspekte
In: Pathologische Erregbarkeit des Nervensystems und ihre Behandlung; Mertens H.G. und Przuntek H. (Hrsg.), Bd. 1, S. 95-107, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg (1980)
- Lowe D.A., Matthews E.K. and Richardson B.P.:
The calcium antagonistic effects of cyproheptadine on contraction, membrane electrical event and calcium influx in the guinea pig taenia coli
Brit.J.Pharmacol. 74: 651-663 (1981)

- MacDonald R.L. and Barker J.L.:
Different actions of anticonvulsant and anesthetic barbiturates resolved by use of cultured mammalian neurons
Science 200: 775-777 (1978)
- Mayer J.M., Khanna J.M. and Kalant H.:
A role for calcium in the acute and chronic actions of ethanol in vitro
Europ.J.Pharmacol. 68: 223-227 (1980)
- Mayer J.M., Knanna J.M., Kalant H. and Ho G.:
Different sites of action for morphine, ethanol, barbital and pentobarbital within the guinea pig ileum longitudinal muscle/myenteric plexus preparation
Europ.J.Pharmacol. 75: 103-108 (1981)
- McLennan H. and Elliot K.A.C.:
Effects of convulsants and narcotic drugs on acetylcholine synthesis
J.Pharmacol.exp.Ther. 103: 35-43 (1951)
- Meldrum B.S., Anlezark G.M., Ashton C.G., Horton R.W. and Sawaya C.B.:
Neurotransmitters and anticonvulsant drug action
In: Post-traumatic epilepsy, pharmacological prophylaxis of epilepsy; Majkowski J. (ed.), pp. 139-153, Polish Chapter of ILEA, Warsaw (1977)
- Meunier H., Carraz G., Meunier Y., Eymard P. and Aimard M.:
Propriétés pharmacodynamique de l'acide n-dipropylacétique I: Propriétés antiepileptiques
Thérapie 18: 435-438 (1963)
- Meyer H. and Frey H.H.:
Dependence of anticonvulsant drug action on central monoamines
Neuropharmacology 12: 939-947 (1973)
- Miller L. and Shaw J.S.:
The inhibitory effect of paracetamol on the electrically stimulated ileum of the guinea pig
J.Pharm.Pharmacol. 33: 188-189 (1981)
- Mitolo-Chieppa D. and Cuomo V.:
The effects of four benzodiazepines and of the benzodiazepine solvents on the isolated guinea pig ileum preparations
Pharmacol.Res.Commun. 9: 643-648 (1977)
- Munro A.F.:
The effect of adrenalin on the guinea pig intestine
J.Physiol. (Lond.) 122: 84-94 (1951)

Naess K. and Schanche S.:

The action of barbiturates on the intestine
Acta pharmacol. (Kbh.) 13: 90-95 (1957)

Nicoll R.A.:

Pentobarbital: Differential postsynaptic actions
on sympathetic ganglion cells
Science 199: 451-452 (1978)

North R.A.:

Electrophysiology of the enteric neurons
In: *Handbook of experimental pharmacology*, vol.
59 I, Bertaccini G. (ed.), pp. 145-175, Springer
Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1982)

Ochillo R.F., Tsai C.S. and Tsai M.H.:

Mechanism of action of muscarine on the longitudinal muscle of the guinea pig isolated ileum
Brit.J.Pharmacol. 72: 225-232 (1981)

Paton W.D.M.:

The response of the guinea pig ileum to electrical
stimulations by coaxial electrodes
J.Physiol. (Lond.) 127: 40-41 P (1955)

Paton W.D.M.:

Cholinergic transmission and acetylcholine output
Canad.J.Biochem. 41: 2637-2653 (1963)

Paton W.D.M.:

Transmural and field stimulation of nerve - smooth
muscle preparations
In: *Methods of pharmacology*; Daniel E.E. and Paton
D.M. (ed.), vol. 3 smooth muscle, pp. 313-320,
Plenum Press, New York (1975)

Paton W.D.M. and Zar M.A.:

The origin of acetylcholin released from guinea
pig intestine and longitudinal muscle strips
J. Physiol. (Lond.) 194: 13-33 (1968)

Paton W.D.M. and Vizi E.S.:

The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea pig ileum longitudinal muscle strip
Brit.J.Pharmacol. 35: 10-28 (1969)

Prichard J.W.:

Antiepileptic drugs: Phenobarbital, Introduction
In: *Antiepileptic drugs: Mechanisms of action*;
Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.),
pp. 473-491, Raven Press, New York (1980)

Prichard J.W.:

Antiepileptic drugs: Phenobarbital, proposed mechanisms of antiepileptic action
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action; Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.), pp. 553-562, Raven Press, New York (1980)

Polc P. and Haefely W.:

Effects of two benzodiazepines, phenobarbitone and baclofen on synaptic transmission in the cat cuneate nucleus
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 294: 121-131 (1976)

Prusoff W.H.:

The distribution of 5-hydroxytryptamine and adenosine triphosphate in cytoplasmatic particles of the dog's small intestine
Brit.J.Pharmacol. 15: 520-524 (1960)

Prusoff W.H.:

Effect of reserpine on the 5-hydroxytryptamine and adenosinetriphosphate of the dog intestinal mucosa
Brit.J.Pharmacol. 17: 87-91 (1961)

Purdy R.E., Julien R.M., Fairhurst A.S. and Terry M.D.:

Effect of carbamazepine on the in vitro uptake and release of norepinephrine in adrenergic nerves of rabbit aorta and in whole brain synaptosomes
Epilepsia 18: 251-257 (1977)

Putnam T.J. and Merritt H.H.:

Experimental determination of anticonvulsant properties of some phenyl derivatives
Science 85: 525-526 (1937)

Quigley J.P. and Phelps K.R.:

Observations regarding the mechanisms of gastrointestinal inhibition by barbituric acid compounds
J.Pharmacol.exp.Ther. 50: 420-424 (1934)

Rall T.W. and Schleifer L.S.:

Drugs effective in the therapy of the epilepsies
In: The pharmacological basis of therapeutics; Goodman Gilman A., Goodman L.S. and Gilman A. (eds.), pp. 448-474, Macmillan Publishing Co., Inc., New York, 6. edition (1981)

Randall L.O., Schallek W., Scheckel C., Banziger R., Boris A., Moe R.A., Bagdon R.E., Schwartz M.A. und Zbinden G.:

Zur Pharmakologie von Valium, einem neuen Pharmakon der Benzodiazepinreihe
Schweiz.med.Wschr. 93: 794-797 (1963)

- Redonnet T.A.:
Contribution a l'étude pharmacodynamique et toxicologique du somnifène
Arch.int.Pharmacodyn 30: 322-351 (1925)
- Rieman O.:
Neuro-Myo-Psychopharmaka: Antiepileptika
In: Klinische Pharmakologie und Pharmakotherapie;
Kuemmerle H.P. (Hrsg.), S. 506-508, Urban und
Schwarzenberg, München/Berlin/Wien (1976)
- Richter J. and Walker M.B.:
Effects of pentobarbital on the regulation of acetylcholine content and release in different regions of rat brain
Biochem.Pharmacol. 26: 609-615 (1977)
- Rikimaru A. and Suzuki T.:
Neural mechanisms of the relaxing responses of guinea pig taenia coli
Tohoku J.exp.Med. 193: 303-315 (1971)
- Sachs L.:
Der Vergleich zweier unabhängiger Stichproben: U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney
In: Angewandte Statistik, hrsg. von Sachs L., pp. 230-235, Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York (1978)
- Sanger G.J. and Bennet A.:
In vitro techniques for study of gastrointestinal motility
In: Handbook of experimental pharmacology, vol. 59 I, Bertaccini G. (ed.): mediators and drugs in gastrointestinal motility, pp. 205-218, Springer Verlag Berlin - Heidelberg - New York (1982)
- Schaumann W.:
Pharmakologische Beeinflussung der Erregungsleitung am Darm
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 229: 432-440 (1956)
- Schaumann W.:
Zusammenhänge zwischen der Wirkung der Analgetika und Sympathomimetika auf den Meerschweinchen-Dünndarm
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path. Pharmak. 233: 112-124 (1958)
- Schofield G.C.:
Anatomy of musculator and neural tissues in the alimentary canal
In: Handbook of physiology; Code C.F. (ed.), vol. 4 alimentary canal, pp. 1579-1628, American Physiological Society, Washington (1968)

Stephens L.N.:

Physical properties of contractile systems
In: Methods of pharmacology; Daniel E.E. and Paton D.M. (eds.), vol. 3 smooth muscle, pp. 265-298, Plenum Press, New York-London (1975)

Stone C.A., Wenger H.C., Ludden C.T., Stavorski J.M. and Ross C.A.:
Antiserotonin-antihistaminic properties of cyproheptadine
J.Pharmacol.exp.Ther. 131: 73-84 (1961)

Suria A. and Costa E.:
Action of diazepam, dibutyryl cGMP and GABA on presynaptic nerve terminals in bullfrog sympathetic ganglia
Brain Res. 87: 102-106 (1975)

Suria A. and Killam E.K.:
Antiepileptic drugs: Carbamazepine
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action; Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.), pp. 563-575, Raven Press, New York (1980)

Taxi J.:
Sur la structure des travées du plexus d'Auerbach: confrontation des données par la microscope ordinaire et par la microscope électronique
Ann.Sci.Nat.Zool.Biol.Anim. 1: 571 (1959)

Theobald W. and Kunz H.A.:
Zur Pharmakologie des Antiepileptics 5-carbamyl-5H-di-benz(b,f)azepin
Arzneimittel Forsch. 13: 122-125 (1963)

Toman J.E.P.:
Drugs effective in convulsive disorders
In: The pharmacological basis of therapeutics; Goodman L.S. and Gilman A. (eds.), pp. 215-236, Macmillan Company, New York (1965)

Tomita T.:
Electrical activity (spikes and slow waves) in gastrointestinal smooth muscle
In: Smooth muscle; Bülbbring E., Brading A.F., Jones A.W. and Tomita T. (eds.), pp. 127-157, Edward Arnold, London (1981)

Trendelenburg P.:
Physiologische und pharmakologische Versuche über die Dünndarmperistaltik
Arch.exp.Path.Pharmak. 81: 55-129 (1917)

- Vanasin B., Bass D.D., Mendeloff A.I. and Schuster M.M.:
Alteration of electrical and motor activity of
human and dog rectum by diphenylhydantoin
Amer.J.dig.Dis 18: 403-410 (1973)
- Vernadakis A. and Woodbury D.M.:
The developing animal as a model
Epilepsia 10: 163-178 (1969)
- Walker L. and Necheles H.:
Inhibition by barbiturates of barium stimulated
intestinal motility
Amer.J.Physiol. 185: 624-626 (1956)
- Weinberger J., Nicklas W.J. and Berl S.:
Mechanisms of action of anticonvulsants
Neurology (Minneap.) 26: 162-166 (1976)
- Wikberg J.:
Localization of adrenergic receptors in guinea pig
ileum and rabbit jejunum to cholinergic neurons
and to smooth muscle cells
Acta physiol.Scand. 99: 190-207 (1977)
- Wood J.D. and Mayer C.J.:
Excitatory action of serotonin on somal membranes
of myenteric neurons of guinea pig small bowel
Fed.Proc. 37: 227 (1978)
- Woodbury D.M.:
Antiepileptic drugs: Phenytoin, Introduction and
history
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action;
Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.),
pp. 305-313, Raven Press, New York (1980)
- Woodbury D.M.:
Antiepileptic drugs: Phenytoin, proposed mechanisms
of anticonvulsant action
In: Antiepileptic drugs: Mechanisms of action;
Glaser G.H., Penry J.K. and Woodbury D.M. (eds.),
pp. 447-470, Raven Press, New York (1980)
- Woodbury D.M. and Kemp J.W.:
Some possible mechanisms of action of antiepilep-
tic drug
Pharmacopsychiat.Neuro-Psychopharmak. 3: 201-226
(1970)
- Youmans W.B.:
Nervous and neurohumoral regulations of intestinal
motility
Interscience, New York (1949)

Youmans W.B.:

Innervation of the gastrointestinal tract
In: Handbook of physiology; Code C.F. (ed.), section 6, vol. 4 alimentary canal. pp. 1655-1663,
American Physiological Society, Washington (1968)

Herrn Prof.Dr. H.-H. Frey bin ich für die Überlassung des Themas, für die wissenschaftliche Anleitung bei der Durchführung der Versuche und der Abfassung dieser Dissertation zu Dank verpflichtet.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des hiesigen Laboratoriums für ihre allzeitige Hilfsbereitschaft und ihr stets freundliches Entgegenkommen.

LEBENS LAUF

Am 21.5.1954 wurde ich, Bernd Sannwaldt, in Wendlingen/a. Neckar geboren. Nach 4 Volksschuljahren besuchte ich von 1965 bis 1966 das Gymnasium in Kirchheim an der Teck, von 1966 an das Söderblom-Gymnasium in Espelkamp, wo ich 1973 das Abitur ablegte.

Im Juli 1973 wurde ich zur Bundeswehr eingezogen und leistete in Goslar und Barnstorf meinen Wehrdienst ab. Im April 1975 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin, das ich im Juli 1980 mit dem Staatsexamen beendete. Die Approbation erfolgte am 29. Juli 1980.

Seit September 1980 arbeitete ich als Doktorand am Laboratorium für Veterinär-Pharmakologie an der vorgelegten Dissertation. Vom 14.10.81 bis 31.3.82 war ich hier als Teilzeit-MTA angestellt.

